Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND †-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

54. BAND, 5. HEFT
MIT 57 TEXTABBILDUNGEN UND 1 PORTRÄT
(ABGESCHLOSSEN AM 15. MÄRZ 1960)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1960

Planta (Berl.)

Preis DM 26.40

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Die eingereichten Arbeiten sollen 2 Druckbogen (à 16 Druckseiten) in der Regel nicht überschreiten.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40. — für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind. Der Autor verpflichtet sich, sie auch nachträglich nicht an anderer Stelle zu publizieren. Mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag geht das Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder einschließlich des Rechts der fotomechanischen Wiedergabe oder einer sonstigen Vervielfältigung an den Verlag über. Jedoch wird gewerblichen Unternehmen für den innerbetrieblichen Gebrauch nach Maßgabe des zwischen dem Börsenverein des Deutschen Buchhandels e. V. und dem Bundesverband der Deutschen Industrie abgeschlossenen Rahmenabkommens die Anfertigung einer fotomechanischen Vervielfältigung gestattet. Wenn für diese Zeitschrift kein Pauschalabkommen mit dem Verlag vereinbart worden ist, ist eine Wertmarke im Betrage von DM 0.30 pro Seite zu verwenden. *Der Verlag läßt diese Beträge den Autorenverbänden zufließen.*

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 830301
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901

---

54. Band **Inhaltsverzeichnis** 5. Heft

Seite

Porträt W. Ruhland

Napp-Zinn, K., Vernalisation, Licht und Alter bei *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. II. Mitteilung. Die Rolle der vor und nach der Kältebehandlung herrschenden Lichtintensität. Mit 2 Textabbildungen 445

Gessner, F., Die Blütenöffnung der *Victoria regia* in ihrer Beziehung zum Licht. Mit 7 Textabbildungen 453

Haccius, B., und G. Trompeter, Experimentell induzierte Einkeimblättrigkeit bei *Eranthis hiemalis*. I. Synkotylie durch 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure. Mit 8 Textabbildungen 466

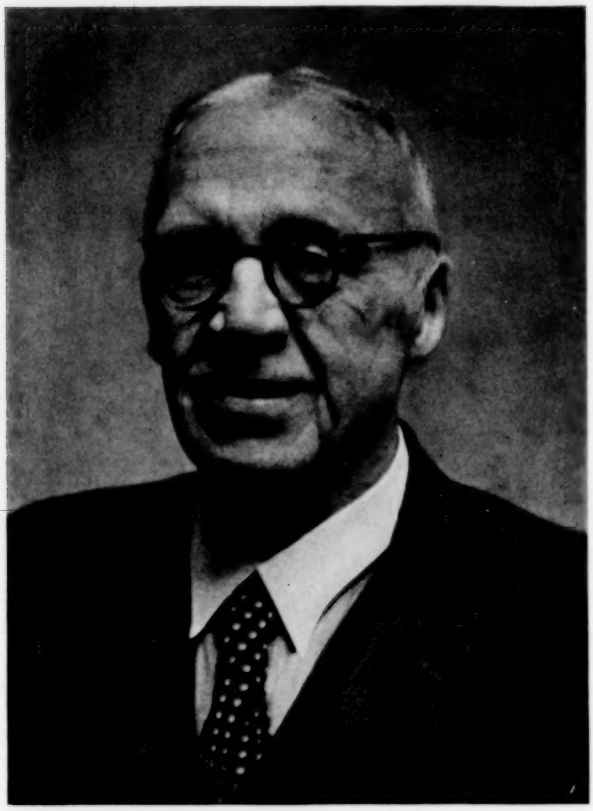
Haccius, B., Experimentell induzierte Einkeimblättrigkeit bei *Eranthis hiemalis*. II. Monokotylie durch Phenylborsäure. Mit 9 Textabbildungen . . 482

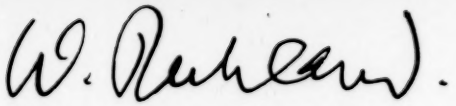
Lang, A., Gibberellin-like substances in photoinduced and vegetative *Hyoscyamus* plants. With 1 Figure in the Text 498

Rudolph, H., Weitere Untersuchungen zur Wärmeaktivierung der Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus*. Mit 8 Textabbildungen . 505

Lieth, H., Über den Lichtkompensationspunkt der Landpflanzen. I. Mitteilung. Mit 22 Textabbildungen 530

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.





in memoriam WILHELM RUHLAND
7. 8. 1878–5. 1. 1960

Planta (Berl.)
Band 54 (1960)

Springer-Verlag
Berlin-Göttingen-Heidelberg

Planta 54, 445—452 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität zu Köln

VERNALISATION, LICHT UND ALTER BEI *ARABIDOPSIS THALIANA* (L.) HEYNH.

II. Mitteilung

DIE ROLLE DER VOR UND NACH DER KÄLTEBEHANDLUNG HERRSCHENDEN LICHTINTENSITÄT

Von

KLAUS NAPP-ZINN

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 14. Dezember 1959)

I. Einleitung

In einer vorausgehenden Mitteilung (NAPP-ZINN 1960) wurde darüber berichtet, daß *Arabidopsis*-Pflanzen der winterannuellen Rasse *Stockholm* in früheren Versuchen (die 1954—1957 in Hohenheim durchgeführt worden waren) eine Phase besonders geringer Vernalisierbarkeit im Alter von etwa 45 Tagen durchlaufen hatten, wogegen bei späteren (Kölner) Experimenten der Zeitpunkt minimaler Vernalisationsbereitschaft zwischen dem 2. und 7. Tag nach der Aussaat gelegen hatte. Die Ursache für dieses unterschiedliche Verhalten wurde von vornherein in unterschiedlichen Lichtbedingungen gesucht: Im ersten Fall war die Aufzucht der Pflanzen vor und nach der Vernalisation unter je 2 HNI- und 3 HNT-40-W-Leuchtstofflampen (Fabrikat Osram) pro m^2 erfolgt, im zweiten Fall unter 20 TL-F-40-W/33-Leuchtstofflampen (Fabrikat Philips) pro 1,44 m^2 ($\approx$ 14 pro m^2). Darüber hinaus waren die Pflanzen in den früheren Versuchen bei Dunkelheit, in den späteren bei schwachem Dauerlicht vernalisiert worden (l. c., Tabelle 4).

Dem Einfluß von Licht und Dunkelheit *während* der Vernalisation hatte inzwischen eine Reihe von Versuchen gegolten (NAPP-ZINN 1960). Ihre Ergebnisse, soweit sie hier von Belang sind, lassen sich dahingehend zusammenfassen, daß bei jüngeren Pflanzen der Rasse *Stockholm* Lichteinwirkung während der Kältebehandlung den Vernalisationseffekt steigerte und stabilisierte (bei älteren war das Blühalter nach Licht- oder Dunkelvernalisation ohnehin etwa gleich gering und wurde auch nach Dunkelvernalisation durch eine 4tägige 30°-Behandlung nicht nennenswert erhöht). *Der Zeitpunkt geringster Vernalisierbarkeit wurde aber durch die während der Vernalisation herrschenden Beleuchtungsverhältnisse nicht beeinflußt.*

Unter diesen Umständen erschien es ratsam, auch den vor und nach der Kältebehandlung herrschenden Lichtbedingungen größere Aufmerksamkeit zu schenken. War die Wirkung der Photoperiode in dem auf die Vernalisation folgenden Zeitraum schon Gegenstand vieler Arbeiten gewesen, so hatte die Lichtintensität eigenartigerweise kaum Beachtung gefunden.

Die wenigen Untersuchungen, die bislang der Rolle der Lichtintensität nachgingen, beschränkten sich zum Teil auf Pflanzen, die von der Aussaat an vernalisiert und erst bei der anschließenden Aufzucht verschieden stark beleuchtet worden waren (v. DENFFER 1939 bei *Hordeum sativum*, NAPP-ZINN 1957 bei *Arabidopsis thaliana*). Dabei zeigte sich bereits, daß der Vernalisationseffekt gewöhnlich um so größer ist, je heller die Pflanzen nach der Kältebehandlung stehen.

Soweit bekannt, prüfte nur JUNGES (1958, 1959) den Einfluß der *vor* der Vernalisation herrschenden Lichtintensität bei Roter Bete (*Beta vulgaris* ssp. *esculenta* f. *rubra*, Sorte *Rote Kugel*) und Kohlrabi (*Brassica oleracea* var. *gongylodes*, Sorte *Triumph von Quedlinburg*) mit dem Ergebnis, daß bei Kohlrabi der Vernalisationseffekt dann am größten war, wenn die Aufzucht vor der Kälteexposition anfangs im Langtag bei hoher, später im Kurztag bei geringer Lichtintensität erfolgt war, während die Vernalisation bei Roter Bete dann die größte Wirkung zeigte, wenn die Pflanzen vor der Kältebehandlung nur im Kurztag bei Schwachlicht aufgewachsen waren.

Versuche, in denen die Lichtintensität sowohl vor als auch nach der Vernalisation variiert worden wäre, scheinen bis jetzt noch nicht durchgeführt worden zu sein, geschweige denn solche, bei denen daneben auch noch Pflanzen verschiedenen Alters Verwendung gefunden hätten.

II. Material und Methode

Selbstungssamen der Pflanze K 237 der winterannuellen Rasse *Stockholm* von *Arabidopsis thaliana* wurden am 8. 12. und 22. 12. 58, am 5. 1., 19. 1., 2. 2., 16. 2., 2. 3. und 9. 3. 59 ausgesät. Die Keimung erfolgte stets (abgesehen von der letzten Gruppe) 3 Tage nach der Aussaat, und weitere 11 Tage später wurden die Sämlinge der 6 ersten Altersstufen zu je 10 in Tonschalen von 12 cm lichter Weite pikiert, die der beiden letzten dagegen erst nach der Vernalisation. Als Substrat diente wieder eine Mischung von Komposterde, Lauberde und Sand.

Die Pflanzen wurden von Anfang an bei zwei verschiedenen Lichtintensitäten kultiviert. Im einen Falle betrug die installierte Leistung etwa 550 W/m² (= J), im anderen knapp 200 W/m² (= $^1/_3$ J). Als Lichtquelle wurden ausschließlich Philips-TL-F-40-W/33-Leuchtstofflampen verwendet. Bei der größeren Beleuchtungsstärke herrschte eine Temperatur von 19—22° C; es ließ sich leider nicht vermeiden, daß bei der geringeren Lichtintensität die Temperatur etwa 1° C tiefer lag.

Vor der Vernalisation wurden alle Aussaaten in zwei Hälften geteilt, von denen dann die eine bei Licht (in einem Kühlraum bei + 1—4° C, eine HNW- und eine HNI-Osram-40-W-Leuchtstofflampe in etwa 1,5 m Höhe über den Pflanzen), die andere bei Dunkelheit (in einem Kühlschrank bei etwa + 2° C) 40 Tage lang (vom 9. 3.—18. 4. 59) vernalisiert wurde.

Nach der Kältebehandlung wurde jede Gruppe abermals halbiert: Die eine Hälfte wurde fortan derselben Lichtintensität wie vor der Vernalisation ausgesetzt, die andere Hälfte der jeweils anderen. Als Blühdatum einer Pflanze wurde wie

üblich der Tag gewertet, an dem an der ersten Blüte die Narbe sichtbar wurde. Bei der Ermittlung der Zahl der Stengelblätter blieben diejenigen Pflanzen unberücksichtigt, bei denen sich eine Blüte an einem Rosettentrieb als erste entfaltet hatte und die Hauptachse gestaucht geblieben war.

III. Ergebnisse

a) Vernalisation bei Licht. Das Blühalter der verschiedenen Versuchsglieder ist in Abb. 1 graphisch dargestellt. Die Zahl der Stengelblätter geht aus der Tabelle hervor, die auch die statistischen Belege enthält. Dreierlei verdient Beachtung:

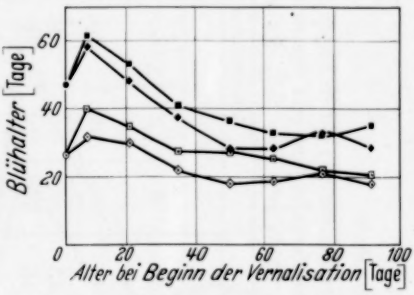


Abb. 1. *Arabidopsis thaliana*, Rasse *Stockholm*. Mittleres Blühalter in Tagen, vom Ende, einer 40tägigen Lichtvernalisation ab gerechnet, in Abhängigkeit vom Alter der Pflanzen zu Beginn der Kältebehandlung und von den vor und nach der Vernalisation herrschenden Lichtintensitäten. ◇ Geringere Lichtintensität (knapp 200 W/m², 1/3 J) vor, höhere (etwa 550 W/m², J) nach der Vernalisation; □ J vor und nach der Vernalisation; ◆ 1/3 J vor und nach der Vernalisation; ■ J vor, 1/3 J nach der Vernalisation. Statistische Belege s. Tabelle

1. In allen Fällen war der Vernalisationseffekt am geringsten bei solchen Pflanzen, die zu Beginn der Kältebehandlung 7 Tage alt waren. Der Zeitpunkt geringster Vernalisierbarkeit wird also auch nicht durch die vor oder nach der Kälteexposition herrschende Lichtintensität bestimmt.

2. Die nach der Vernalisation bei der höheren Lichtintensität kultivierten Pflanzen blühten stets früher als die gleichaltrigen Exemplare, die nach der Kältebehandlung bei geringerer Lichtintensität gehalten worden waren. Dies überrascht nicht, wenn man sich die erwähnten früheren Befunde (v. Denffer 1939, Napp-Zinn 1957) vergegenwärtigt, die sich freilich nur auf solche Pflanzen beziehen, die von der Aussaat an vernalisiert worden waren.

3. Abgesehen von der Aussaat vom 22. 12. 58, manifestierte sich bei allen Altersstufen im Blühalter auch die Lichtintensität, der die Pflanzen *vor* der Kältebehandlung ausgesetzt waren. Dies geschah in *der* Weise, daß bei Pflanzen, die am gleichen Tage ausgesät worden waren, das Blühalter in folgender Reihenfolge zunahm:

Zunehmendes Blühalter ↓

geringere Lichtintensität vor, höhere nach der Vernalisation
höhere Lichtintensität vor und nach der Vernalisation
geringere Lichtintensität vor und nach der Vernalisation
höhere Lichtintensität vor, geringere nach der Vernalisation

Durch die erstgenannte Kombination wurde das Blühalter selbst bei 7 Tage alten Keimlingen so sehr herabgesetzt, daß die entsprechende Kurve in Abb. 1 einen relativ flachen Verlauf nimmt. Die Blühalterdifferenz zwischen Pflanzen, die bei Vernalisationsbeginn 0, und solchen,

Tabelle *Arabidopsis thaliana, Rasse Stockholm*

Mittleres Blühalter, vom Ende einer 40tägigen Kältebehandlung (bei Licht oder Dunkelheit) an in Tagen gerechnet, und mittlere Zahl der Stengelblätter in Abhängigkeit vom Alter der Pflanzen bei Beginn der Vernalisation und von den vor und nach der Vernalisation herrschenden Lichtintensitäten. (J = etwa 550 W/m²; $^1/_3$ J = knapp 200 W/m²; n = Zahl der auswertbaren Pflanzen.)

Aussaat-Datum (Alter bei Vernalisations-beginn)	Lichtintensität		Vernalisation bei Licht							Vernalisation bei Dunkelheit					
			Blühalter				Stengelblätter			Blühalter			Stengelblätter		
	vor der Vernalisation	nach der Vernalisation	$\bar{x}$	n	$\sum(\bar{x}-x)^2$	P^1	$\bar{a}$	n	$\sum(\bar{a}-a)^2$	$\bar{x}$	n	$\sum(\bar{x}-x)^2$	$\bar{a}$	n	$\sum(\bar{a}-a)^2$
8. 12. 58 (91 Tage)	$^1/_3$ J	J	17,5	10	41	0,04	12,2	10	46	21,4	10	154	9,5	8	14
	J	J	20,6	10	134		9,9	8	9	23,5	10	114	9,1	10	29
	$^1/_3$ J	$^1/_3$ J	28,7	10	136	0,004	12,6	10	42	29,8	10	304	9,0	9	16
	J	$^1/_3$ J	35,1	10	215		9,7	10	36	39,6	10	500	10,4	9	12
22. 12. 58 (77 Tage)	$^1/_3$ J	J	21,7	10	60	0,86	10,1	10	43	27,7	10	112	9,5	8	84
	J	J	22,0	10	198		9,0	9	6	27,2	10	70	8,7	7	15
	$^1/_3$ J	$^1/_3$ J	33,2	10	304	0,7	11,0	10	30	34,1	10	249	8,2	9	4
	J	$^1/_3$ J	32,1	10	485		12,1	10	17	45,3	4	637	12,0	2	8
5. 1. 59 (63 Tage)	$^1/_3$ J	J	18,7	10	14	$\ll$0,0002	8,5	10	8	21,8	10	20	6,4	10	14
	J	J	25,3	10	18		7,4	10	6	24,7	10	94	8,7	9	20
	$^1/_3$ J	$^1/_3$ J	28,2	10	120	0,005	6,7	10	8	37,7	10	462	9,6	9	24
	J	$^1/_3$ J	32,8	9	49		7,3	9	10	31,0	10	430	7,6	9	24
19. 1. 59 (49 Tage)	$^1/_3$ J	J	18,0	9	72	$<$0,0002	5,8	9	4	26,5	10	348	5,4	10	20
	J	J	27,4	10	98		7,5	10	10	25,1	10	27	6,4	10	22
	$^1/_3$ J	$^1/_3$ J	28,3	10	134	$<$0,0002	6,6	10	22	34,0	10	154	5,5	10	14
	J	$^1/_3$ J	36,4	10	88		9,3	10	38	38,4	10	38	6,7	10	18
2. 2. 59 (35 Tage)	$^1/_3$ J	J	21,9	10	41	$<$0,0002	3,0	10	14	40,6	10	190	8,0	10	6
	J	J	27,3	10	50		5,7	10	14	27,6	10	79	7,5	10	38
	$^1/_3$ J	$^1/_3$ J	37,1	10	57	0,11	8,4	10	18	56,9	10	67	11,3	10	14
	J	$^1/_3$ J	41,0	10	430		10,6	10	76	39,6	10	64	7,4	10	18

16. 2. 59 (21 Tage)	1/3 J	J	29,9	10	81	0,009	8,3	10	4	45,4	9	208	8,6	8	10
	J	J	34,8	10	172		8,1	10	13	50,4	10	232	8,3	6	3
	1/3 J	1/3 J	48,0	10	70	0,001	9,4	10	22	74,3	7	422	12,4	7	20
	J	1/3 J	53,1	10	79		9,3	10	22	84,1	10	781	14,1	10	31
2. 3. 59 (7 Tage)	1/3 J	J	31,5	20	837	0,0005	2,5	20	35	73,5	20	1611	10,1	20	23
	J	J	40,0	20	1218		5,4	20	41	69,5	20	2059	9,6	18	40
	1/3 J	1/3 J	58,3	20	759	0,3	6,7	20	63	104,3	20	1329	13,3	20	70
	J	1/3 J	61,5	20	2501		7,5	20	115	105,4	20	675	13,8	20	47
9. 3. 59 (0 Tage)	—	J	26,5	20	13		3,3	20	17	39,0	20	466	4,6	20	43
	—	1/3 J	47,4	20	145		5,3	20	11	52,8	10	124	5,0	10	12

[1] *P*-Werte ermittelt nach Pätau 1943.

die 7 Tage alt waren, ist aber auch in diesem Falle gut gesichert ($P = 0{,}0022$). Noch größer ist die Signifikanz der Blühalterunterschiede nach verschiedenartiger Lichtexposition *vor* der Kältebehandlung. Herrschte *nach* der Vernalisation die höhere Intensität, so ergab sich für diese Differenz (nach Pätau 1942) ein totales $P < 1{,}5 \cdot 10^{-12}$;

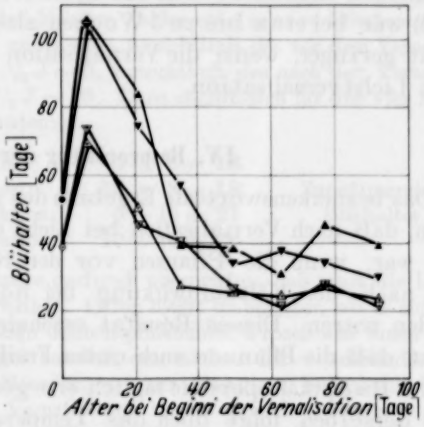


Abb. 2. Wie Abb. 1, jedoch Blühalter nach Dunkelvernalisation. ▽ 1/3 J vor, J nach der Vernalisation; △ J vor und nach der Vernalisation; ▼ 1/3 J vor und nach der Vernalisation; ▲ J vor, 1/3 J nach der Vernalisation. Statistische Belege s. Tabelle

standen die Pflanzen jedoch nach der Vernalisation unter schwächerer Beleuchtung, so wurde (unter Beiseitelassung der Aussaat vom 22. 12. 58) ein totales $P < 3 \cdot 10^{-10}$ ermittelt.

Die Zahl der Stengelblätter ist nur in großen Zügen der Zahl der bis zur Blütenentfaltung bei etwa 20° C verbrachten Tage proportional und erlaubt keine weiterreichenden Folgerungen.

b) Vernalisation bei Dunkelheit. Auch wenn die Kältebehandlung bei Dunkelheit stattgefunden hatte, lag unabhängig von der vorher und hinterher waltenden Lichtintensität die Phase geringster Vernalisationsbereitschaft bei den 7 Tage alten Keimlingen (Abb. 2). — Wie nach Lichtvernalisation wurde das Blühalter deutlich

durch die Stärke der *nach* der Kältebehandlung gebotenen Beleuchtung beeinflußt: Unter sonst praktisch gleichen Bedingungen wurde der Vernalisationseffekt durch höhere Lichtintensität gesteigert. — Die *vor* der Vernalisation herrschende Lichtintensität manifestierte sich dagegen im vorliegenden Falle *nicht*; dabei bleibt unentschieden, ob die Ursache in der während der Vernalisation herrschenden Dunkelheit oder in ungleichmäßigen Temperaturverhältnissen in dem Kühlschrank zu suchen ist, in dem die Kältebehandlung durchgeführt wurde[1]. — In Übereinstimmung mit früheren Befunden (NAPP-ZINN 1960) war bei etwa bis zu 5 Wochen alten Pflanzen der Vernalisationseffekt geringer, wenn die Vernalisation bei Dunkelheit erfolgt war, als nach Lichtvernalisation.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Das bemerkenswerteste Ergebnis des geschilderten Versuches besteht darin, daß nach Vernalisation bei Licht das Blühalter dann am niedrigsten war, wenn die Pflanzen vor der Kältebehandlung bei geringerer und nach der Kälteeinwirkung bei höherer Lichtintensität gehalten worden waren. Dieses Resultat erscheint verständlich, wenn man bedenkt, daß die Pflanzen auch unter Freilandbedingungen normalerweise *vor* der Hauptkälteperiode täglich eine geringere Lichtmenge erhalten als *nach* derselben, folgt doch das Temperaturminimum gewöhnlich dem kürzesten Tag mit mehrwöchigem Abstand, worauf in ähnlichem Zusammenhang auch schon JUNGES wiederholt hingewiesen hat. Da im vorliegenden Fall stets Dauerlicht geboten wurde und ein photoperiodischer Effekt deshalb nicht in Betracht kommt, dürfte es sich hier um einen reinen Lichtmengeneffekt handeln. Auf alle Fälle ist hiermit von neuem erwiesen, daß auch die vor der Vernalisation (in der sog. Präthermophase) herrschenden Lichtverhältnisse eine merkliche Rolle spielen, was man nach der Stadientheorie, wie sie LYSSENKO formuliert hatte, nicht hätte erwarten sollen.

Gewisse Schwierigkeiten bieten unsere Ergebnisse dem physiologischen Verständnis. Wie z. B. niedere Lichtintensität, verglichen

[1] Zugunsten der ersten Möglichkeit mag folgendes sprechen: Addiert man für jede der vier Lichtintensitätskombinationen die Blühaltermittelwerte aller Altersstufen, so stehen die Summen nach Lichtvernalisation im Verhältnis 55 ($^1/_3$ J vor, J nach der Vernalisation): 66 (J/J): 91 ($^1/_3$ J/$^1/_3$ J): 100 (J/$^1/_3$ J), nach Dunkelvernalisation im Verhältnis 68 ($^1/_3$ J/J): 66 (J/J): 97 ($^1/_3$ J/$^1/_3$ J): 100 (J/$^1/_3$ J). Da sich, aufs ganze gesehen, die Wirkungen geringer Temperaturunterschiede bei der Dunkelvernalisation ausgleichen dürften, könnte dies bedeuten, daß der beschleunigende Effekt einer vor der Kältebehandlung herrschenden geringeren Lichtintensität nach Dunkelvernalisation nicht zur Geltung kommt.

mit höherer, *vor* der Vernalisation das Blühalter steigert, *nach* der Vernalisation aber senkt — dies zu erklären bedarf es weiterer Annahmen, unabhängig von unseren bisher ohnehin nur hypothetischen Vorstellungen über den Mechanismus des Vernalisationsprozesses.

Eine solche Annahme könnte etwa folgendermaßen lauten: Vor und nach der Vernalisation wirkt das Licht auf verschiedene Prozesse ein, wobei wir der Einfachheit halber nur einen Prozeß *vor* und einen anderen, stärker lichtempfindlichen *nach* der Kälteeinwirkung annehmen. Der erste wird mit zunehmender Lichtintensität ($^1/_3$ J → J) gehemmt, der zweite umgekehrt mit abnehmender Lichtintensität (J → $^1/_3$ J) gehemmt. Wir drücken nun diese Verhältnisse zahlenmäßig (in willkürlichen Einheiten) aus, wobei kleinere Zahlen eine relative Förderung der Blütenbildung kennzeichnen sollen, und setzen hinsichtlich des vor der Vernalisation ablaufenden Prozesses J ~ 10, $^1/_3$ J ~ 5, hinsichtlich des nach der Vernalisation ablaufenden Prozesses J ~ 8, $^1/_3$ J ~ 16. Dann ergibt sich für die vier Kombinationen der beiden Lichtintensitäten:

$^1/_3$ J vor, J nach der Vernalisation:	5 + 8 = 13	
J vor, J nach der Vernalisation:	10 + 8 = 18	Zunehmendes
$^1/_3$ J vor, $^1/_3$ J nach der Vernalisation:	5 + 16 = 21	Blühalter
J vor, $^1/_3$ J nach der Vernalisation:	10 + 16 = 26	↓

Diese Annahme kann man teilweise dadurch überprüfen, daß man die Lichtintensität in noch weiterem Maße variiert. Offen bleibt dabei aber, ob es sich bei dem *vor* der Vernalisation ablaufenden lichtempfindlichen Prozeß um einen Teilabschnitt des Vernalisationsvorganges handelt oder nicht. Da — zumindest bei >35 Tage alten Pflanzen — mit Beendigung einer 40tägigen Kältebehandlung das thermostabile Endprodukt der Vernalisation bereits erreicht zu sein scheint, dürfte die *nach* der Kälteexposition herrschende Lichtintensität *keinen* Teilprozeß der Vernalisation beeinflussen.

Zusammenfassung

Pflanzen der winterannuellen *Arabidopsis*-Rasse *Stockholm*, 0—91 Tage vor Beginn einer 40tägigen Lichtvernalisation ausgesät, blühten am frühesten, wenn sie vor der Vernalisation bei geringerer und nach der Vernalisation bei höherer Lichtintensität aufgewachsen waren. Durch die umgekehrte Kombination (höhere Intensität vor, geringere nach der Kältebehandlung) wurde der Blühbeginn am stärksten verzögert.

Unabhängig von den Lichtverhältnissen vor, während und nach der Kältebehandlung sprachen unter den Bedingungen dieses Versuches 7 Tage alte Keimlinge auf eine 40tägige Vernalisation am wenigsten an. Der Zeitpunkt geringster Vernalisierbarkeit wird also auch nicht durch die vor und nach der Vernalisation herrschende Lichtintensität bestimmt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich für vielfältige Unterstützung, Fräulein KARLA RAMM für sorgfältige Assistenz sehr zu Dank verbunden.

Literatur

DENFFER, D. v.: Über das Zusammenwirken von Keimstimmung und täglicher Belichtungsdauer auf die Entwicklung von *Sinapis* und *Hordeum*. Jb. wiss. Bot. **88**, 759—815 (1939). — JUNGES, W.: Die Wirkung von Tageslänge und Lichtintensität in der Präthermophase bienner Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 197—204 (1958). — Auswirkungen von Temperatur und Licht in der Jugendentwicklung von Kohlrabi und Roter Rübe. Z. Pflanzenzüchtg **41**, 33—46 (1959). NAPP-ZINN, K.: Die Abhängigkeit des Vernalisationseffektes bei *Arabidopsis thaliana* vom Quellungsgrad der Samen und vom Lichtgenuß der Pflanzen nach der Kältebehandlung. Flora (Jena) **144**, 403—419 (1957). — Vernalisation, Licht und Alter bei *Arabidopsis thaliana* (L.) HEYNH. I. Licht und Dunkelheit während Kälte- und Wärmebehandlung. Planta (Berl.) **54**, 409—444 (1960). — PÄTAU, K.: Eine neue χ^2-Tafel. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **80**, 558—564 (1942). — Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen. (Eine neue t-Tafel.) Biol. Zbl. **63**, 152—168 (1943).

Privatdozent Dr. KLAUS NAPP-ZINN,
Botanisches Institut der Universität zu Köln
Köln-Lindenthal, Gyrhofstr. 15—17

Planta 54, 453—465 (1960)

Aus dem Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia in Manaus
und dem Botanischen Institut der Universität München

DIE BLÜTENÖFFNUNG DER *VICTORIA REGIA* IN IHRER BEZIEHUNG ZUM LICHT

Von

FRITZ GESSNER

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 16. Dezember 1959)

Einleitung

In den letzten drei Monaten des Jahres 1956 und im Januar 1957 sowie im März, April und Mai 1959 gaben Einladungen des Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia in Manaus (Brasilien) dem Verfasser Gelegenheit, im Gebiete des Amazonas und des Rio Negro hydrobiologische und botanische Untersuchungen durchzuführen.

Während meines zweiten Aufenthaltes am Amazonas studierte ich neben vielen anderen, vor allem limnologischen Fragen auch physiologisch-ökologische Probleme an der *Victoria regia*, einer Pflanze, deren Stomatoden mich schon vor Jahren interessiert hatten (GESSNER 1950).

Die unmittelbare Anregung zu meinen *Victoria*-Untersuchungen am natürlichen Standort kam von Prof. Dr. FRITZ KNOLL (Wien), der mich veranlaßte, an dieser Pflanze blütenbiologische Beobachtungen zu machen.

Über diese sei jedoch an dieser Stelle nicht berichtet; vielmehr sollen nur jene eigentümlichen Beziehungen dargestellt werden, die sich zwischen der Blütenöffnung und dem Lichtfaktor aufzeigen lassen.

Die Standortsbedingungen der *Victoria regia*

Es ist auffällig, daß über die Standortsbedingungen einer Pflanze, die in fast allen größeren botanischen Gärten innerhalb und außerhalb der Tropen kultiviert wird, in der wissenschaftlichen Literatur kaum Angaben zu finden sind. Wenn man die Daten vergleicht, an denen in der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts die *Victoria regia* in verschiedenen Teilen Boliviens, Brasiliens und Britisch-Guayanas beobachtet worden ist (STRANSKY 1951), so fällt auf, daß sich diese — soweit sie überhaupt erwähnt wurden — immer auf die erste Jahreshälfte beziehen. Hat man Gelegenheit, das Amazonasgebiet zu verschiedenen Jahreszeiten zu bereisen, so findet man leicht eine Erklärung dafür. Das Jahr des äquatorialen Südamerika ist klimatisch zwar durch keinerlei nennenswerte

Temperaturgegensätze gekennzeichnet, besitzt jedoch eine deutliche Aufeinanderfolge von Regenzeit in der ersten und Trockenzeit in der zweiten Jahreshälfte. Folgende Tabelle, bezogen auf Beobachtungen zwischen 1910 und 1920 in Manaus veranschaulicht dies durch einige Daten:

Tabelle 1

Klimadaten von Manaus, 3° 8′ s. Br., 59° 53′ w. L., 45 m über dem Meeresspiegel

	Monate												
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	Mittel bzw. Summe
Temperatur °C . .	26,6	26,7	26,5	26,6	26,6	26,7	27,0	27,6	28,2	28,2	27,9	27,0	27,2
Niederschlag mm .	234	228	243	217	179	92	55	35	52	105	139	196	1771
Dampfdruck mm .	20,9	21,0	21,1	21,3	21,3	20,8	20,4	20,5	20,6	20,9	21,1	21,0	20,9
Relative Feuchte %	80	80	81	82	82	80	77	75	73	74	76	80	78
Bewölkung	6,4	6,7	6,6	6,6	6,4	6,3	6,0	6,0	6,0	6,3	6,3	6,6	6,3
Tage mit Niederschlag	18	18	17	19	18	10	7	6	6	11	12	15	—

Diese Daten — entnommen dem Handbuch der Klimakunde von KNOCH (1930) — lassen den Gegensatz zwischen Regen- und Trockenzeit sehr deutlich erkennen. Er ist für das gesamte Amazonasgebiet typisch und nur am oberen Rio Negro weniger deutlich ausgesprochen (SIOLI 1955).

Diese Klimarhythmik ist für alles Geschehen am Amazonas von einschneidender Bedeutung und stellt darüber hinaus ein Naturexperiment ersten Ranges dar, denn Amazonien gleicht einem Thermostaten mit sehr stark wechselnder Wasserzufuhr.

Am auffälligsten drückt sich der Wechsel von Regen- und Trockenzeit in den Pegelschwankungen aus, die 10—12 m betragen können (Abb. 1). Sie werden seit Jahrzehnten von der Booth-Line am Hafen von Manaus verzeichnet und geben ein eindrucksvolles Bild vom Pulsieren des Wasserstandes. Da das Amazonasgebiet als ehemaliger Boden eines riesigen tertiären Binnensees eine ungeheuer große Ebene darstellt, in die nur die Flüsse ihre Ersosionsrinnen eingegraben haben, bedeuten diese Pegelschwankungen und die durch sie bedingten regelmäßigen Überflutungen weitester Gebiete wohl die größten Änderungen, die eine Landschaft auf unserer Erde in rhythmischer Folge erleidet. Daß dies auch auf die Vegetation tiefgreifende Wirkungen ausüben muß, bedarf kaum eines Hinweises.

Einer der feinsten Indicatoren für die Klimarhythmik ist die Charakterpflanze des Amazonas und vieler seiner Nebenflüsse *Victoria regia*. Der gleiche See, der gleiche Flußarm, in denen man im Oktober und November nicht die geringste Spur dieser Pflanze findet, sind in den ersten Monaten des Jahres mitunter zu großen Teilen ihrer Wasser-

flächen mit Blättern und Blüten dieser Seerose bedeckt. In der Regel steigt das Wasser im Dezember, und damit beginnt auch die *Victoria* mit ihrer Jahresentwicklung. März, April und Mai sind die Monate üppigster vegetativer und reproduktiver Entfaltung, im Juni kommt diese mit dem Abklingen der Regenzeit zum Stillstand und im Juli verschwindet diese Pflanze völlig aus den oberen Wasserschichten.

Es ist heute noch völlig unmöglich, die physiologischen Ursachen für diese Vegetationsrhythmik aufzuzeigen, da sich mit den Pegelschwankungen zu viele physikalische und chemische Faktoren des

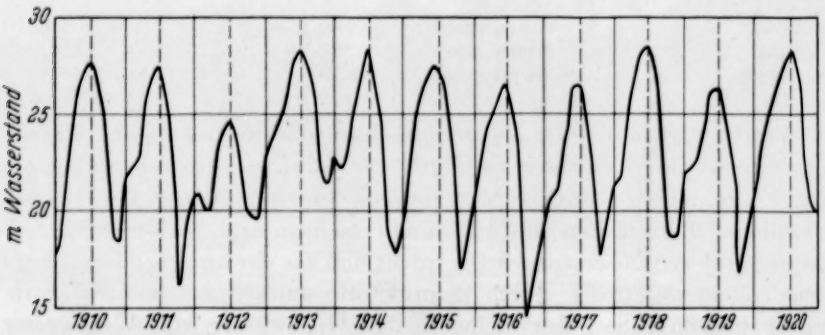


Abb. 1. Pegelschwankungen des Rio Negro bei Manaus, wenige Kilometer oberhalb seiner Vereinigung mit dem Solimões zum Amazonas. (Nach Aufzeichnungen der Booth-Line am Hafen von Manaus, mit Genehmigung des Britischen Konsulats in Manaus)

Victoria-Biotops ändern, und wir nicht sagen können, welcher von ihnen entscheidend ist. Um eine endonome Rhythmik dürfte es sich kaum handeln, denn seit hundert Jahren wird die *Victoria* in europäischen Gewächshäusern auch in Jahreszeiten kultiviert, zu denen sie am natürlichen Standort nicht zu sehen ist. Auch dem steigenden Wasserstand selbst dürfte — etwa durch Ansteigen des hydrostatischen Druckes — keine direkte Bedeutung zukommen, denn in den Kulturbassins gedeiht die Pflanze ohne jede Änderung der Wassertiefe vollkommen optimal.

Nicht weniger eindeutig als die zeitliche Rhythmik der *Victoria*-Entwicklung ist ihre räumliche Verteilung. Die Wasserarten des Amazonasgebietes können in erster Annäherung in drei Gruppen geteilt werden (Sioli 1956), erstens in die Weißwässer, die reich an anorganischen Trübungsstoffen sind und von jungen Gebirgen (z. B. den Anden) herabströmen, von denen sie große Mengen an Verwitterungsmaterial mitführen, zweitens in die Klarwässer, die alten Mittelgebirgen entstammen, von denen sie nur wenig Material abschwemmen, das sie bereits im Oberlauf sedimentieren, und drittens die Schwarzwässer, deren Wasser moorigen Geländedepressionen in kalkarmem Urgestein entspringen. Weißwässer (Amazonas, Solimões, Madeira) sind *relativ*

reich an Elektrolyten und haben fast neutrales, stark getrübtes Wasser, Klarwässer (Tapajoz, Xingu) und Schwarzwässer (Rio Negro) sind elektrolytarm, mäßig bis stark sauer und haben eine größere Durchsichtigkeit. Einige repräsentative Werte für diese drei Wasserarten sind — nach eigenen Untersuchungen — in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle 2

Fluß	Wasserart	Elektrolytische Leitfähigkeit in $\varkappa_{18} \cdot 10^6$	pH	Licht in 25 cm Tiefe in % der Oberfläche
Madeira	Weißwasser	80	7,0	1,6
Tapajoz	Klarwasser	17	7,1	69
Rio Negro	Schwarzwasser	9	5,7	50

Es ist zu betonen, daß es sich hierbei um eine Einteilung der *Wasserarten*, nicht der Gewässer handelt. Die starken Pegelschwankungen bringen es mit sich, daß ein und derselbe See oder Wasserarm zu verschiedenen Jahreszeiten mit durchaus verschiedenem Wasser erfüllt ist. Bei sinkendem Wasserstand z. B. ergießt sich aus der umgebenden „Terra firme" elektrolytarmes, durch Humusstoffe dunkel gefärbtes Schwarzwasser in einen See, der vielleicht bei Hochwasser von Weißwasser durchspült wird.

Für die Verbreitung der Victoria regia ist nun kennzeichnend, daß sie nur in Weißwässern und allenfalls in Mischwassergebieten, niemals aber in ausgesprochenen Schwarzwässern vorkommt. In einem Weißwasserfluß, dem Rio Mamoré am Oberlauf des Madeira (Bolivien) wurde die Pflanze etwa um 1801 durch den österreichischen Botaniker TADDÄUS HAENKE entdeckt. Der Wechsel der Wasserarten, der sich mitunter in ein und demselben Wasserbecken vollzieht, kann es bedingen, daß *Victoria* in der ersten Jahreshälfte im Weißwasser eines Sees gedeiht, der in der zweiten Schwarzwasser enthält.

Die Fundstelle der *Victoria regia*, an der die im folgenden dargestellten Beobachtungen und Versuche angestellt worden sind, war von der Stadt Manaus in $1^1/_2$stündiger Fahrt mit einer Motorlancha erreichbar. Einige Kilometer unterhalb der genannten Stadt fließen die beiden Riesenströme Solimões und Rio Negro zusammen und bilden von hier ab — nach der brasilianischen Bezeichnung — den Amazonas. Kurz vor dem Zusammenfluß verbindet ein Kanal (Paraná) diese beiden Flüsse. Fährt man etwa 2 km in diesen *Paraná do Xiborena* hinein, so gelangt man an eine Stelle, wo nach links ein stiller Seitenarm abzweigt, der weitgehend durch das schwimmende Gras *Paspalum repens* zugewachsen ist. Durchfährt man mit der Canoa diese Wiese, so gelangt man in ein Gebiet, das an vielen Stellen fast lückenlos mit den Blatt-Tellern der

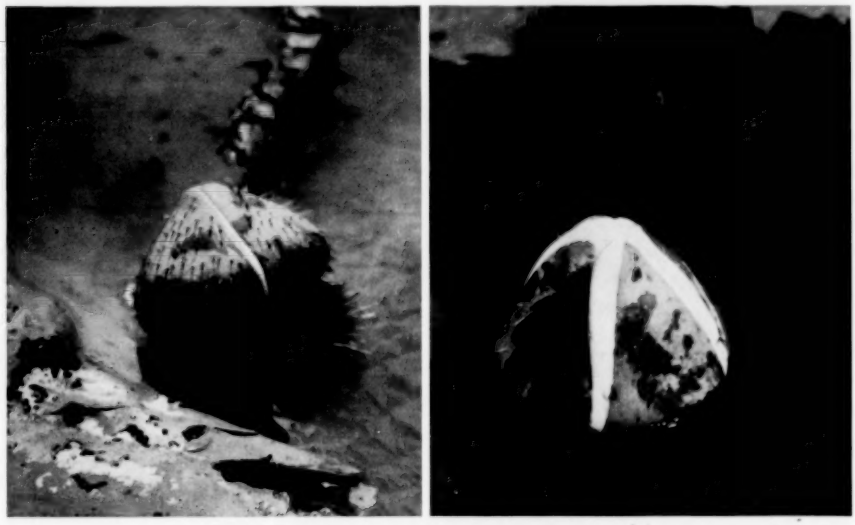
Victoria regia bedeckt ist (Abb. 2). Zur Zeit des niedrigsten Wasserstandes mag dieser Seitenarm 1—2 m tief sein oder ganz trocken liegen, zur Zeit des höchsten Wasserstandes erreicht er eine Tiefe von 8—10 m. *Zwischen diesen Tiefenbereichen kann sich die Victoria durch entsprechendes Wachstum ihrer Blatt- und Blütenstiele dem steigenden Wasserstand anpassen.* Der p_H des Wassers betrug hier am 16. 3. 1959 6,75, die Leit-

Abb. 2. Seitenarm des Paraná do Xiborena, eines Verbindungskanals des Rio Negro mit dem Solimões. Bestände von *Victoria regia*, vergesellschaftet mit *Paspalum repens*, *Phyllanthus fluitans* sowie *Salvinia*- und *Azolla*-Arten (Photo: ALCESTES)

fähigkeit ($\varkappa_{28}$) $64 \cdot 10^{-6}$, es handelte sich somit fast um reines Weißwasser des Solimões. Nur die Durchsichtigkeit war größer, da im ruhenden Wasser eine rasche Sedimentation erfolgt. In 25 cm Tiefe war noch 50% des eindringenden Lichtes nachweisbar. Die Oberflächentemperatur betrug am 15. 4. um 10 Uhr 29.9°C, in 7 m Tiefe 27,5°C. Hinsichtlich des O_2-Gehaltes wies die Wassermasse des *Victoria*-Standortes am gleichen Tage eine sehr große Inhomogenität auf. Die Oberflächenwerte schwankten zwischen 2,89 und 5,56 mg/l, die Werte in 7 m Tiefe (Grund) zwischen 0,0 und 1,66 mg/l. Jedenfalls darf angenommen werden, daß sich das Wurzelsystem der *Victoria* unter anaeroben Bedingungen befindet und durch die Luftkanäle der Blattstiele mit Sauerstoff versorgt werden muß.

Die *Victoria*-Blüte in ihrer Beziehung zum Licht am natürlichen Standort

Beobachtungen und Versuche über das Verhalten der *Victoria*-Blüten am natürlichen Standort scheinen noch nicht vorzuliegen. Es wurde daher an dem soeben beschriebenen Fundort eine Reihe von Untersuchungen vorgenommen, die in eindeutiger Weise zeigten, *daß das Aufblühen immer zur Zeit des Sonnenunterganges erfolgt, also um 18 Uhr*



a b

Abb. 3a u. b. *Victoria*-Knospen am natürlichen Standort kurz vor dem Öffnen. a um 12 Uhr, b um 16 Uhr. Der sichtbar werdende weiße Rand der Sepalen ist ein sicheres Zeichen dafür, daß sich die Knospe am gleichen Abend öffnen wird (Photo: ALCESTES)

Ortszeit. Es ist dabei ein überaus eindrucksvolles Erlebnis, wenn man von einem etwas erhöhten Standplatz aus beobachten kann, wie der Aufblühvorgang bei allen Knospen streng synchron verläuft. Schon wenige Stunden vor dem Öffnen weichen die Kelchblätter etwas auseinander und lassen ihren weißen Saum erkennen, wie dies von CASPARY bereits 1856 im Gewächshaus beobachtet worden ist (Abb. 3). Es muß hier bemerkt werden, daß sich alle Knospen, die am Morgen über der Wasseroberfläche zu sehen waren, abends öffneten. Die Gewächshausbeobachtung von KNOCH (1899) — die durch eigene bestätigt werden konnte —, daß Knospen sich vor dem Öffnen 3—11 Tage bereits über Wasser befanden, konnte am Standort nicht bestätigt werden.

Es ist jedoch nicht schwer zu erklären, warum sich die Knospen am Standort und im Gewächshaus verschieden verhalten. Zur Zeit meiner Untersuchungen entfalteten sich die Knospen über einer Wassertiefe von 6—8 m, sie brauchten also lange um die Wasseroberfläche zu

erreichen und hatten somit genügend Zeit, in den blühreifen Zustand zu gelangen. Anders im Gewächshaus, wo die Wassertiefe zumeist weniger als 1 m beträgt. Die Knospen durchstoßen die Wasseroberfläche sehr frühzeitig und zwar in einem völlig unreifen Zustand. Sie müssen hier also erst einige Tage verharren, wobei sie jenen Wechsel von positiv geotropen zu negativ geotropen Krümmungen der Blütenstiele durchführen, den auch KNOCH bereits beschrieben hat.

Es ist ein Zeichen der hohen regulativen Fähigkeit der Seerosen (vgl. GESSNER 1959), daß die Knospenstiele ihr Längenwachstum einstellen, sobald die Blütenentfaltung eingeleitet wird. Ist darum der Wasserstand niedrig, so stehen die Blütenstiele sehr schräg, in tiefem Wasser dagegen ist ihre Lage fast senkrecht und ihre Länge entspricht etwa der Wassertiefe.

In folgender Zusammenstellung ist das Verhalten der Knospen während der Anthese in kurzen Zeitabständen wiedergegeben. Der hier geschilderte Fall vollzieht sich — soweit meine Erfahrung reicht — auf sämtliche Blüten des ganzen Bereiches und kann daher ohne weiteres verallgemeinert werden.

Tabelle 3

Ortszeit	Lux	Verhalten der Blüten bzw. Knospen	Verhalten der bestäubenden Käfer
16^{20}	25000	Knospen geschlossen	nirgends sichtbar
17^{30}	4000	Knospen geschlossen, leichter Duft	ebenso
17^{35}	3000	ebenso	ebenso
17^{40}	2200	ebenso	ebenso
17^{45}	1600	ebenso	ebenso
17^{50}	800	ebenso	ebenso
17^{55}	500	Öffnungsbeginn, Sepalen und Petalen weichen etwas auseinander	ebenso
18^{00}	300	äußerste Petalen einige Zentimeter voneinander entfernt	ebenso
18^{05}	70	Beginn der Rückkrümmung der Sepalen	ebenso
18^{08}	—	Weitere Rückkrümmung der Sepalen	1. Käfer umschwirrt die Blüte
18^{10}	25	Weiteres Auseinanderweichen der Petalen, rotes Blütenzentrum wird sichtbar	2. Käfer setzt sich auf die Blüte
18^{13}	—	fortschreitendes Auseinanderweichen der Petalen	3. Käfer fliegt an
18^{15}	8	Sepalen und äußere Petalen weit zurückgekrümmt, Blüte offen	4. Käfer fliegt an
18^{20}	0	Eingang zum Blütenkessel sichtbar, Blütenöffnung beendet	5. Käfer fliegt an

Die Untersuchungen beziehen sich auf den 1. Mai 1959, die Lufttemperatur betrug im Schatten um 16^{37} Uhr 29,2°C, die Temperatur der Wasseroberfläche 31,2°C. Das Wetter war am Nachmittag völlig klar, der Himmel nur von wenigen Wolken bedeckt. Dies zu betonen ist wichtig, da an sehr trüben Tagen, wie sie während der Regenzeit ja häufig sind, die Aufblühzeit nicht so genau festgelegt werden kann.

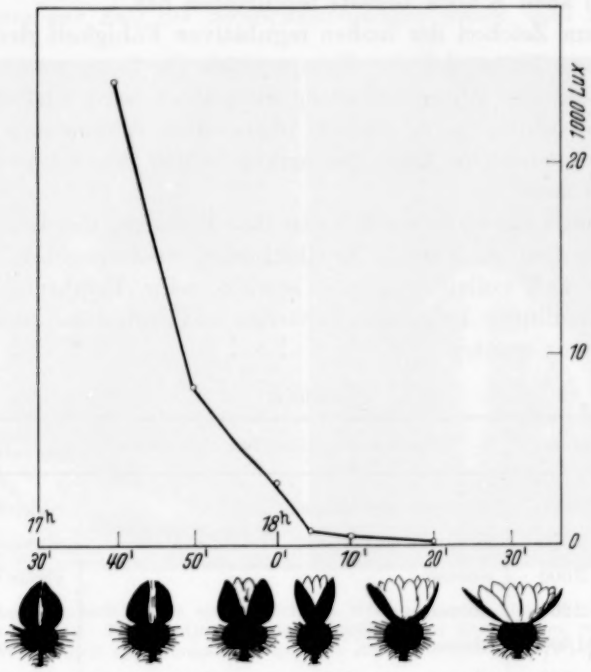


Abb. 4. Beziehung zwischen Blütenöffnung und Beleuchtungsstärke. Abszisse: Tageszeit, Ordinate: Beleuchtungsstärke (nur als Relativwerte verwendbar, vgl. Text)

In den darauffolgenden etwa 30 min kommt es noch zu einer weiteren Rückkrümmung der Sepalen und Petalen, und der Anflug der bestäubenden Käfer *(Cyclocephala castanea)* verstärkt sich. Am anderen Morgen können in den Blüten 25—30 Käfer gefunden werden.

Zu den angeführten Werten für die Beleuchtungsstärke ist zu sagen, daß sie offenbar zu niedrig sind und nur als Relativzahlen gewertet werden dürfen. Leider gab es keine Möglichkeit, das Luxmeter zu eichen. Da jedoch bei vollem Tageslicht um Mittag etwa 40000 Lux gemessen worden sind, darf angenommen werden, daß das Instrument mindestens um die Hälfte zu kleine Luxwerte anzeigte.

Der Vorgang der Blütenöffnung, der — wenn wir von der vorangegangenen geringen Spreizung der Sepalen und von der der Blütenöffnung folgenden weiteren Rückkrümmung der Sepalen und Petalen

absehen — also ziemlich genau 20 min dauert, fällt zeitlich mit dem Absinken der Beleuchtungsstärke zusammen (Abb. 4).

Wenn zwischen Lichtabnahme und Blütenöffnung ein ursächlicher Zusammenhang besteht, war zu erwarten, daß eine Verdunkelung während des Tages zu einer früheren Knospenentfaltung führen müsse. Diese Frage, die zu einem unerwarteten Ergebnis führte, wurde an zahlreichen Versuchserien geprüft, bei denen jeweils 3—5 Knospen mit Stanniolpapier umhüllt wurden. Die Zahl von 3—5 pro Serie gleichartig und nahezu gleichzeitig behandelter Knospen erscheint zunächst klein. Da sich jedoch alle Knospen völlig gleich verhalten, können die Beobachtungen auch dieser geringen Zahl von Knospen ohne weiteres verallgemeinert werden.

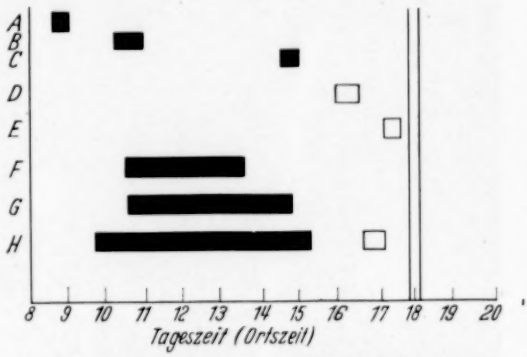


Abb. 5. Verdunkelung der *Victoria*-Knospen am natürlichen Standort. *A*—*H* entsprechen Versuchsserien zu je 3—5 Knospen. Länge der Balken: Verdunkelungsdauer unter Angabe der Tageszeit. Schwarze Balken: Knospen nach Verdunkelung geschlossen, weiße Balken: Blütenöffnung während der Verdunkelung. Der Versuch *H* veranschaulicht das Verhalten einer Knospenserie, die nach 6stündiger Verdunkelung *vor* 16 Uhr geschlossen blieb, sich jedoch während einer 30 min langen Verdunkelung *nach* 16 Uhr geöffnet hatte. Vertikale Säule rechts zeigt Zeit und Dauer der normalen Blütenöffnung bei Sonnenuntergang

Zunächst wurden den ganzen Tag über Verdunkelungszeiten von 30 min gewählt, die für eine Blütenöffnung völlig unwirksam waren, sofern sie in der Zeit vor etwa 16 Uhr lagen. Nach diesem Zeitpunkt wirkte jede 30 min lang dauernde Verdunkelung blütenöffnend. *Etwa um 16 Uhr also treten die Knospen aus der lichtunempfindlichen in eine lichtempfindliche Phase ein, durch die sie an der Blütenöffnung gehindert werden.* Kürzere Verdunkelungszeiten (15—20 min) sind jedoch auch da noch unwirksam.

Es wurden nun mehr- bis vielstündige Verdunkelungsphasen während des Tages eingeführt und auch diese blieben ohne jeden Erfolg, wenn sie vor 16 Uhr abgeschlossen worden waren. Für die Schärfe des Umschlags im physiologischen Zustand der Knospe ist kennzeichnend, daß z. B. eine fünfstündige Verdunkelung zwischen 10 und 15 Uhr ohne Einfluß auf die Blütenöffnung blieb, eine 30 min dauernde Verdunkelung nach 16 Uhr sofort zur Öffnung der Knospe führte. Eine Zusammenstellung der durchgeführten Versuchsserien bringt Abb. 5, bei der jeder Block einer Serie von 3—5 Knospen entsprach.

Wiederholt wurden am Nachmittag Knospen abgeschnitten, in Wasser gestellt und gegen Abend am Balkon des Amazonashotels in Manaus — etwa 6 km vom

Fundplatz — exponiert. Es kam in der Regel zu einer normalen Blütenentfaltung bei Sonnenuntergang, jedoch niemals zu Käferanflug.

Das Verhalten der *Viktoria*-Blüten zum Licht im Gewächshaus

CASPARY (1856) gibt an, daß sich die *Victoria*-Blüten — mit einiger Regelmäßigkeit — zwischen 16^{30} und 17 Uhr öffnen, ein Befund, der sich auf Grund eigener Gewächshausbeobachtungen nicht bestätigen ließ. Besser stimmt die Angabe von KNOCH (1899), wonach die Blütenöffnung zwischen 17 und 19 Uhr erfolgt, doch läßt auch diese nicht erkennen, ob eine enge Beziehung zum Sonnenuntergang besteht. Es

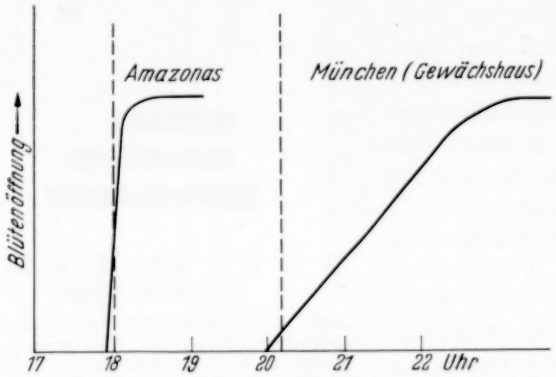


Abb. 6. Tageszeit und Dauer des Öffnungsvorganges der *Victoria*-Blüte in Beziehung zum Sonnenuntergang (gestrichelte Linie) am Amazonas (links) und im Gewächshaus des Münchner Botanischen Gartens (rechts)

wurden darum im *Victoria*-Haus des botanischen Gartens in München während des ganzen Sommers 1959 an wolkenlosen Tagen Beobachtungen über Knospenöffnung und Sonnenstand gemacht. *Es ließ sich dabei in völliger Eindeutigkeit zeigen, daß auch im Gewächshaus eine sehr enge Beziehung zwischen Anthese und Sonnenuntergang besteht.* So erfolgte die Blütenöffnung am 18. Juni (Sonnenuntergang um 20^{10} Uhr) zwischen 20 und 22 Uhr, am 4. September (Sonnenuntergang um 18^{52} Uhr) zwischen 18^{30} und 19^{30} Uhr (Abb. 6).

Gegenüber dem Verhalten am natürlichen Standort, wo die Blütenöffnung 20—30 min dauert, braucht die *Victoria* zur Blütenentfaltung im Gewächshaus 60—90 min. Die niedrigere Temperatur, die längere Dauer der Dämmerung und vielleicht ein degenerierender Einfluß langer Kultur unter umweltsfremden Bedingungen mögen die Ursachen dieser Verzögerung sein.

Bemerkenswert ist, daß oft die Öffnung der Knospe nicht allseitig gleichmäßig erfolgt, sondern an der lichtabgewandten Seite vorauseilt. Auch diese Tatsache unterstreicht den entscheidenden Einfluß des Lichtes auf die Knospenöffnung.

Die Gewächshausversuche an *Victoria regia* boten Gelegenheit zu prüfen, ob nächtliche Beleuchtung ein Geschlossenbleiben der Knospen erzwingen kann. Es wurde darum über einer Pflanze von *Victoria regia* eine 500 Watt-Lampe in 1 m Höhe montiert, deren weißer Strahler das Licht auf die Knospe konzentrierte.

Wurde die Beleuchtung am Spätnachmittag über einer Knospe eingeschaltet, deren Aussehen mit Sicherheit ein Öffnen bei Sonnenunter-

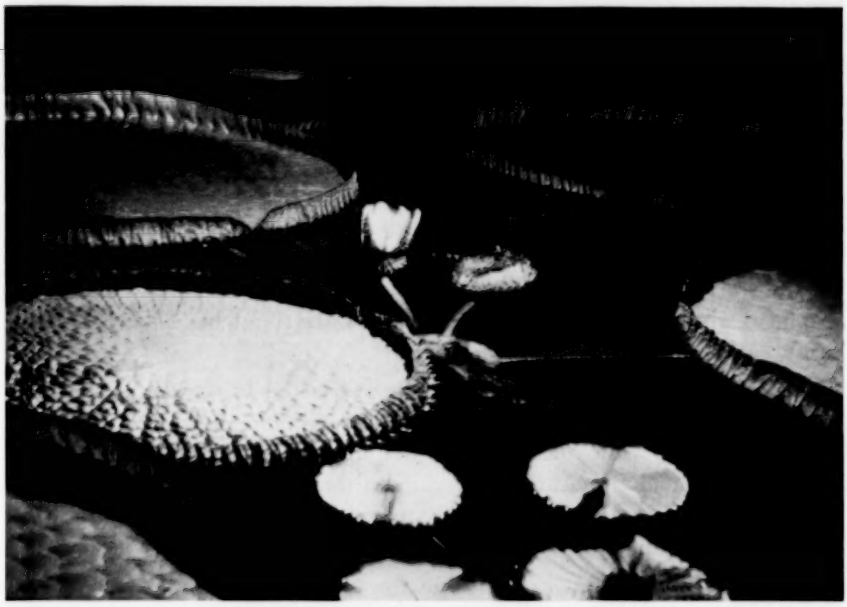


Abb. 7. *Victoria regia* im Gewächshaus des Botanischen Gartens München um 24 Uhr. Beleuchtung seit 16 Uhr mit einer 500 Watt-Lampe in 1 m Abstand. Eine weitere Öffnung der Knospe trat auch zu späterer Nachtzeit nicht ein (Photo GESSNER)

gang voraussagte, so ließ sich in der Tat zeigen, daß ein Öffnen der Knospe ausbleibt. Zwar kommt es im Laufe der Nacht zu einem geringfügigen Auseinanderweichen der Sepalen, die Blüte verharrt dennoch in fast geschlossenem Zustand (Abb. 7). Offenbar akkumuliert sich die Blühbereitschaft jedoch auch während der Beleuchtung, denn gegen Mittag des nächsten Tages — also in vollem Tageslicht, selbst bei hellem Sonnenschein — durchbricht der „Öffnungswille" die Lichthemmung, und es kommt binnen kurzem zu einer vollständigen Blütenentfaltung.

Bei der lichtbedingten Verzögerung des Aufblühens konnte nun eine bemerkenswerte Feststellung gemacht werden. Im Normalfall kommt es 16—18 Std nach dem Aufblühen — also am Nachmittag des Tages, der dem Abend des Aufblühens folgt — durch Bildung von Anthocyan zu einer Rotfärbung der Petalen. 24 Std nach Blütenöffnung sind diese

dunkelrot gefärbt. Diese Verfärbung bzw. die ihr zugrunde liegenden stoffwechselphysiologischen Prozesse in den Kronenblättern laufen nun offenbar unabhängig vom Aufblühen ab, denn wenn die Knospe durch nächtliche Beleuchtung gezwungen wird, erst um Mittag aufzublühen, rötet sich die Blüte bereits 2—4 Std nach dem Öffnen.

Es liegt nahe, das Verhalten von *Victoria regia* mit anderen Nachtblühern z. B. mit *Selenicereus pteranthus* zu vergleichen, einer Cactacee, der RAU und ZEHENDER (1958) neuerlich eine Arbeit gewidmet haben. Diese Pflanze leitet die Blütenöffnung bereits etwa um 16 Uhr, also in vollem Tageslicht ein und kann darin weder durch Dauerlicht noch durch Dauerdunkelheit gehindert werden. Eine Verschiebung des Licht-Dunkel-Rhythmus allerdings veranlaßt die Pflanze schon nach 3—5 Tagen gleichfalls zu einer Änderung des Blührhythmus. Während diese Pflanze also nicht sofort auf einen Licht-Dunkelwechsel mit dem Aufblühen reagiert, ist dies bei *Victoria regia* anders. Eine blühreife Knospe gerät wie erwähnt ab 16 Uhr in eine lichtempfindliche Phase, in der sie bereits durch eine halbstündige Verdunkelung zum Aufblühen gezwungen wird, in der sich andererseits im Dauerlicht bei Nacht der Aufblühtermin um etwa 16 Std verschiebt.

Es muß hervorgehoben werden, daß sich die in dieser Arbeit dargestellten Beobachtungen nur auf *Victoria regia* beziehen. *Victoria cruziana* verhält sich dem Licht gegenüber völlig anders und scheint weit weniger in ihren Aufblühvorgängen durch Licht bzw. Dunkelheit bestimmt zu werden. In der Regel kann man beobachten, daß die Blüten bereits am frühen Nachmittag zur Öffnung gelangen.

Zusammenfassung

Untersuchungen über die natürlichen Standortsverhältnisse der *Victoria regia* im Amazonas-Gebiet haben bestätigt, daß diese Pflanze im Rhythmus ihrer vegetativen Entfaltung an die Pegelschwankungen der Flüsse gebunden ist und sich nur bei steigendem Wasserstand, also zwischen Dezember und Juni entwickelt. Von Juli bis November ist die Pflanze an der Wasseroberfläche nicht sichtbar.

Zu dieser Bindung an den Wasserstand kommt eine Bindung an den Wasserchemismus, da die Pflanze nur in elektrolytreichen Weißwässern, nicht aber in den sauren, extrem elektrolytarmen Schwarzwässern gedeiht.

Am natürlichen Standort öffnen sich die Knospen bei Sonnenuntergang, also etwa um 18 Uhr, wobei der Öffnungsvorgang etwa 30 min dauert. Eine Verdunkelung der Knospen durch Stanniolpapier während des Tages von beliebiger Dauer bleibt unwirksam, sofern diese Verdunkelung vor 16 Uhr fällt. Nach dieser Zeit genügen 30 min

Verdunkelung für das Aufblühen. Hinsichtlich des Lichtes erfolgt also etwa um 16 Uhr eine Umstimmung der Empfindlichkeit der Knospe.

Abgeschnittene und in Wasser gestellte Knospen reagieren ebenso. Auch im Münchner Gewächshaus besteht eine enge Beziehung zwischen Sonnenuntergang und Knospenöffnung. Diese erfolgt an klaren Tagen im Juni etwa um 20 Uhr, im September um 18^{30} Uhr. Der Vorgang des Aufblühens dauert im Gewächshaus jedoch 60—90 min.

Nächtliche Beleuchtung genügender Stärke erzwingt ein Geschlossenbleiben blühbereiter Knospen. Es kommt jedoch zu einer Akkumulation der Blühbereitschaft, die schließlich zur Blütenöffnung im vollen Tageslicht des nächsten Tages führt. Die Rotfärbung der Petalen ist vom Zeitpunkt der Blütenöffnung unabhängig.

Mein Dank gebührt Herrn Dr. Raul Antony, dem damaligen Vizedirektor des Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, das meine Forschungen in großzügigster Weise unterstützte, ferner Herrn Prof. Dr. H. Sioli (Plön), durch dessen Vermittlung die Einladungen ausgesprochen worden sind. Schließlich danke ich auch noch meinem brasilianischen Assistenten, Herrn Alcestes S. Rebelo für seine Hilfe bei den Standortsuntersuchungen und einige photographische Aufnahmen.

Die Finanzierung dieser sowie aller anderen von mir durchgeführten Arbeiten am Amazonas erfolgte in der entgegenkommendsten Weise ausschließlich durch das „Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia" in Manaus. Seinem Direktor Dr. Tito Cavalcanti in Rio de Janeiro sowie dem jetzigen Vizedirektor Dr. Djalma Batista sei ebenfalls mein besonderer Dank ausgesprochen.

Literatur

Caspary, R.: Über die Wärmeentwicklung in der Blüte der *Victoria regia*. Mber. Kgl. Akad. Wiss. Berlin, Dez. 1855. — Gessner, Fr.: Die Stomatoden des *Victoria*-Blattes. Planta (Berl.) **38**, 123—131 (1950). — Hydrobotanik II (Stoffhaushalt). Berlin: Deutscher Verlag der Wissenschaften 1959. — Limnologische Untersuchungen im Mischungsgebiet zwischen Rio Negro und Amazonas (Solimões). Int. Rev. f. Hydrobiol. **45**, (1960) (im Druck). — Knoch, E.: Untersuchungen über die Morphologie, Biologie und Physiologie der Blüte von *Victoria regia*. Bibl. bot. H. **47** (1899). — Knoch, K.: Handbuch der Klimakunde, Teil II. 1930. — Rau, W., u. Cl. Zehender: Beobachtungen über den Einfluß des Lichtes auf das Blühen von Selenicereus pteranthus. Phyton (Argentinien) **10** (1), 27—34, III (1958). — Sioli, H.: Beiträge zur regionalen Limnologie des Amazonasgebietes. III. Über einige Gewässer des oberen Rio Negro-Gebietes. Arch. f. Hydrobiol. **50**, 1—32 (1955). — Über Natur und Mensch im brasilianischen Amazonasgebiet. Erdkunde **10**, 89—109 (1956). — Stransky, E.: Zur Entdeckungsgeschichte der *Victoria regia*. Diss. Uni. Wien (Manuskript) 1951.

Prof. Dr. Fritz Gessner, München 19, Menzinger Straße 67,
Botanisches Institut der Universität

Planta 54, 466—481 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz

EXPERIMENTELL INDUZIERTE EINKEIMBLÄTTRIGKEIT BEI *ERANTHIS HIEMALIS*

I. SYNKOTYLIE DURCH 2,4-DICHLORPHENOXYESSIGSÄURE

Von

BARBARA HACCIUS und GERHARD TROMPETER*

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Dezember 1959)

Bekanntlich findet man bei einer Reihe von Dikotylen-Arten echte (nicht bloß durch verschiedene Ausbildung der beiden Kotyledonen vorgetäuschte) Einkeimblättrigkeit. Die Anzahl der in diesem Sinne „monokotylen Dikotylen" ist beschränkt, wenn auch größer als aus den üblichen Aufzählungen ersichtlich ist. Nach unseren Untersuchungen (HACCIUS 1952) gibt es 17 Dikotylen-Gattungen, in denen entweder eine oder mehrere Arten normalerweise nur ein Keimblatt ausbilden.

Dazu kommen zahlreiche Angaben, besonders in der älteren Literatur, über das gelegentliche spontane Auftreten einkeimblättriger Sämlinge bei sonst normal zweikeimblättrigen Dikotylen-Arten. Da diese sich häufig durch das Vorhandensein zweier gleich starker Leitbündel im Kotyledonarstiel bei genauerer Besichtigung als *synkotyl* erweisen, d. h. als mit zwei einseitig verwachsenen Kotyledonen ausgestattet, hat man verschiedentlich versucht, auch den einen Kotyledo der spezifisch „monokotylen Dikotylen" als Verwachsungsprodukt zu erklären (Synkotylie-Theorie).

Die mehr oder weniger tief eingeschnittenen Kotyledonarspreiten der einkeimblättrigen Dikotylen *Ranunculus Ficaria* und *Anemone apennina* schienen dieser Auffassung Recht zu geben. Wie wir jedoch im einzelnen belegen konnten (HACCIUS u. FISCHER 1959), handelt es sich hier lediglich um fiederteilige Spreiten einfacher, mit nur einem Stiel-Medianus versehener Keimblätter. Überhaupt konnten wir bei keiner der von uns bisher untersuchten einkeimblättrigen Dikotylen-Arten Hinweise für die Richtigkeit der Synkotylie-Theorie finden.

Andererseits gibt es Befunde, die für eine zweite Deutungsmöglichkeit angeführt werden können, daß es sich nämlich bei der Dikotylen-Einkeimblättrigkeit um eine bis zur totalen Entwicklungshemmung des einen Kotyledos gesteigerte Anisokotylie handle (Anisokotylie-Theorie): Bei den normalerweise einkeimblättrigen Dikotylen-Arten

* D 77.

Pinguicula alpina (HACCIUS u. HARTL-BAUDE 1956), *Cyclamen persicum* (HAGEMANN. unveröffentlicht) und *Bunium bulbocastanum* haben wir einige wenige manifest anisokotyle Embryonen gefunden und anatomisch untersucht. Die Möglichkeit, daß es sich in diesen Fällen bei dem zweiten, etwas schwächer entwickelten Kotyledonarprimordium um die Anlage des ersten Laubblattes gehandelt hätte, konnte ausgeschlossen werden. Die Anzahl derartiger Zufallsfunde ist jedoch zu gering, um weitertragende Schlüsse daraus zu ziehen.

Neue Ansatzpunkte für die Bearbeitung des Problems ergaben sich aus unseren experimentell-embryologischen Arbeiten. Wie wir in anderem Zusammenhang bereits mitgeteilt haben (HACCIUS 1955a), ist es bei der Ranunculacee *Eranthis hiemalis* möglich, durch Behandlung bestimmter Embryonalstadien mit geeignet konzentrierten Wirkstofflösungen einen hohen Prozentsatz von anomal „einkeimblättrigen" Sämlingen zu erhalten. Auf diese Weise stehen beliebige Mengen aller nur denkbaren Rückbildungs- und Verwachsungsgrade für die morphologisch-anatomische Untersuchung zur Verfügung.

Im folgenden werden zunächst die nach rechtzeitiger Applikation von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) oder anderer sogenannter Wuchsstoffe auftretenden Varianten beschrieben. Sie unterscheiden sich sehr einschneidend von den ebenfalls einkeimblättrigen *Eranthis*-Keimen, die wir nach Anwendung von Phenylborsäure-Lösungen bekommen haben. Diese werden in einem gesonderten, dem vorliegenden folgenden Artikel ausführlicher besprochen. Die entwicklungsgeschichtliche und morphologisch-anatomische Analyse der beiden bei *Eranthis hiemalis* experimentell induzierbaren Monokotylie-Typen soll einerseits ein Beitrag zur Aufklärung der Wirkungsweise der angewandten Substanzen sein und andererseits neue Argumente liefern für ein besseres Verständnis des Phänomens der „Dikotylen-Monokotylie".

A. Methoden der Gewinnung 2,4-D-induzierter Kotyledo-Anomalien

Wie wir in früheren Publikationen (HACCIUS 1953, 1957) ausführlicher dargestellt haben, enthalten die bereits Anfang Mai ausfallenden Samen von *Eranthis hiemalis* noch ungegliederte, birnförmige Vorkeime von etwa 0,1 mm Länge. Die Weiterentwicklung bis zum voll ausgebildeten, keimungsfähigen Embryo dauert 7 Monate und findet in den im Boden liegenden Samen statt. Man kann daher durch Behandlung frisch geernteter Samen mit geeignet konzentrierten Wirkstofflösungen die Vorgänge der Organanlegung am Embryo experimentell beeinflussen ohne sonstige Veränderungen des natürlichen Milieus.

Seit 1953 haben wir jährlich in einer größeren Versuchsreihe junge *Eranthis*-Keime auf verschiedenen Entwicklungsstadien und mit verschieden konzentrierten Lösungen des Na- und des NH_4-Salzes der 2,4-D behandelt und alle Abweichungen in der Ausbildung der Kotyledonen untersucht und registriert.

Bereits bei den ersten Versuchen stellten wir fest, daß Embryonen, die sofort nach der Samenernte unter dem Einfluß des Wirkstoffes gestanden hatten, überwiegend mit Zwillingsbildungen (HACCIUS 1955b) oder mit Vermehrung der Anzahl der Keimblätter reagierten, während bei später behandelten Keimen Kotyledoverwachsungen aller Grade überwogen (HACCIUS 1955a). Wir haben die sich hierin äußernde Phasenspezifität des 2,4-D-Effektes in den folgenden Jahren genauer untersucht und werden später ausführlicher darüber berichten.

Im einzelnen gehen wir bei den Versuchen folgendermaßen vor: Die frisch geernteten Samen werden entweder zu je 200 Stück in Blumentöpfe (⌀ 8 cm) mit gedämpfter Erde ausgesät oder in verkorkten Reagensgläsern bis zum Behandlungstag aufbewahrt. Dieser wird je nach dem erwünschten Effekt gewählt.

Die Behandlung der in den Töpfen befindlichen Samen geschieht durch einfaches Begießen mit je 80 cm^3 der 2,4-D-Salz-Lösungen. Die Dauer des Wirkstoffeinflusses läßt sich auf diese Weise natürlich nicht genau angeben. Sie richtet sich nach dem je nach Feuchtigkeit und Mikrobengehalt mehr oder weniger raschen Abbau der Substanz im Boden. Wir haben daher jeweils Parallelversuche mit den in Reagensgläsern aufbewahrten Samen durchgeführt, die am Behandlungstag für viermal 24 Std in die Lösungen eingelegt wurden und dann gut gewaschen in die Erde kamen. So konnte wenigstens die Aufnahme der 2,4-D durch die Samen, nicht aber die Dauer der Einwirkung der aufgenommenen Substanz auf die Embryonen, zeitlich begrenzt werden.

Die Weiterbehandlung ist dann die gleiche. Die Töpfe werden an einer schattigen Stelle des Gartens eingegraben bis zum Beginn der Keimung Anfang Dezember. In der Zwischenzeit werden in regelmäßigen Abständen Proben entnommen und der Zustand der Embryonen untersucht.

Die relativ höchsten Anteile an Keimlingen mit Verwachsungen im Bereich der Keimblätter erhielten wir mit 200—600 ppm-Lösungen des NH_4-Salzes der 2,4-D. Die Ergebnisse mit in der Erde begossenen Samen waren im allgemeinen, was die Ausbildung der Anomalien betrifft, besser und gleichmäßiger als bei den erst nach der Behandlung ausgesäten Probanden.

Da der Entwicklungszustand der Embryonen in den gerade ausfallenden Samen je nach Standort und Witterungseinflüssen kleine Verschiedenheiten aufweist, und da auch die Keime in gleichzeitig und vom gleichen Standort gesammelten Samen nicht alle ganz genau auf der gleichen Entwicklungsstufe stehen, müssen Angaben über in bestimmter Weise wirksame Behandlungstermine notwendig einen weiteren Bereich umfassen, als es bei der wahrscheinlich sehr präzisen Phasenspezifität des Effektes für den einzelnen Samen gelten würde.

Weitere Einzelheiten über Material und Methoden sind unseren früheren Veröffentlichungen zu entnehmen.

In den Abbildungen werden folgende Abkürzungen verwendet: *V* = Sproßvegetationspunkt; *Co* = Kotyledo; *M* = Kotyledo-Medianus; *1*, *2* u. *1'*, *2'* = seitliche Abzweigungen der Kotyledo-Mediani.

B. Morphologie und Anatomie normaler *Eranthis*-Keimpflanzen

Die Besonderheiten der *geophilen Keimungsweise* von *Eranthis hiemalis* sind an anderer Stelle ausführlicher dargestellt worden (HACCIUS 1953a). Mit ihr hängen die eigenartigen Proportionen der reifen Embryonen und Keimpflanzen zusammen. Die später zu einem

Knöllchen verdickte Keimachse bleibt zeitlebens extrem gestaucht. Das eigentliche Streckungswachstum während der Keimung findet überwiegend im Bereich der Kotyledonarscheide statt, deren basaler Abschnitt den Sproßvegetationspunkt (*V*) tief in den Boden schiebt, während der obere Teil die beiden eiförmigen Keimblattspreiten über die Erde bringt (Abb. 1, *I*).

Aus Abb. 1, *II a—f* sind die für das Verständnis der im folgenden zu schildernden Anomalien wichtigen anatomischen Daten zu entnehmen. Trotz der eigenartigen äußeren Gestalt der Sämlinge gleichen

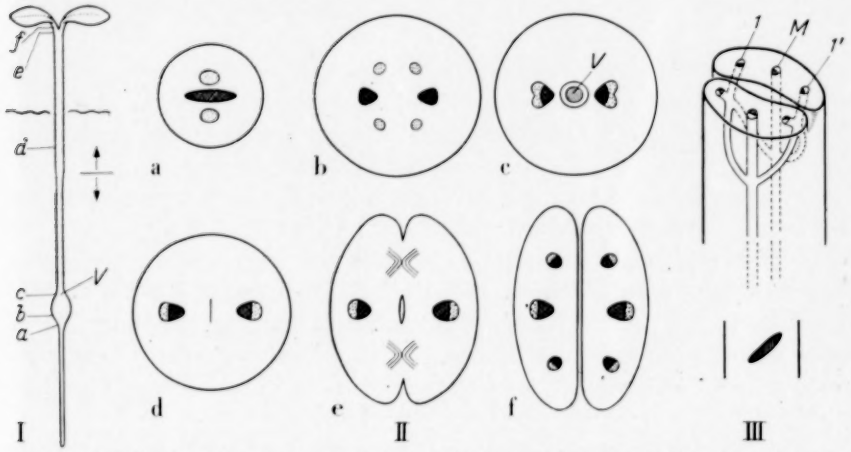


Abb. 1. *Eranthis hiemalis*. Anatomie einer unveränderten Keimpflanze (I) in Querschnitten (II) und in schematischer räumlicher Darstellung (III)

Anordnung und Verlauf der Leitelemente denjenigen anderer Ranunculaceen-Keimpflanzen: Die diarche Stele der Primärwurzel (*a*) geht im Hypokotyl in die beiden kollateralen Keimblatt-Mediani über, die ohne sich zu verzweigen in opponierter Stellung die ganze Kotyledonarscheide durchziehen (*b—d*). Erst an der Basis der Spreite zweigen je zwei Seitennerven (*1* und *1'*) ab, die sich jeweils mit dem gegenüberliegenden Partner über eine sehr kurze Distanz hin vereinigen und dann in die Spreiten einziehen (Abb. 1, *III*). Auf diese Weise entsteht das Bild einer „Überkreuzung" von je 2 einander gegenüberliegenden Seitensträngen (Abb. 1, *II e—f* u. Abb. 7, *I*).

Die Bündel *1* und *1'* innervieren in ihrem weiteren Verlauf die Randzonen der Spreiten. Erst die beiden weiter oben vom Medianus (*M*) abzweigenden stärkeren Nerven *2* und *2'* sind als die eigentlichen Lateralia anzusehen. Sie enden zusammen mit dem Medianus in einer an der Spreitenspitze gelegenen Hydathode (Abb. 3, *I*).

Zusammenfassend ist festzuhalten, daß die Keimpflanzen-Anatomie von *Eranthis hiemalis* normalerweise durchaus die für Dikotylen-Sämlinge

mit diarcher Keimwurzel typischen Verhältnisse zeigt. Die beiden Kotyledonen sind in gerader Linie über den beiden Xylempolen der Primärwurzelstele inseriert (Abb. 1, *III*).

C. Morphologie und Anatomie der nach 2,4-D-Anwendung auftretenden synkotylen Keimpflanzen

1. Allgemeiner Überblick

Abb. 2 gibt einen Überblick über die Mannigfaltigkeit der Keimblattgestaltungen, die durch 2,4-D-Einwirkung unter den angegebenen Bedingungen erzielt werden können. In ihren übrigen Teilen sind die abgebildeten Sämlinge normal ausgebildet, auch die bis zur Spreitenbasis hin verwachsene Keimblattscheide zeigt, von der noch näher zu besprechenden Bündelzahl abgesehen, keine Besonderheiten.

Je nach Art und Grad der Verwachsung der Kotyledonarspreiten kann eine vorläufige Gruppierung durchgeführt werden:

1. Beidseitige, mehr oder weniger weitgehende Verwachsung der beiden Kotyledonarspreiten (Abb. 2, *X—XII*).

2. Einseitige, mehr oder weniger weitgehende Verwachsung der beiden Kotyledonarspreiten (Abb. 2, *II—VI* u. Abb. 3, *II—IV*).

Eine strenge Unterscheidung der beiden Ausbildungsweisen ist jedoch nicht möglich, da sie durch die zahlenmäßig überwiegenden Übergangsformen mit beidseitiger, aber unterschiedlich weitgehender Spreitenverwachsung verbunden sind (Abb. 2, *VII—IX*).

Die Mannigfaltigkeit der Anomalien wird noch größer, wenn man die anatomischen Verhältnisse berücksichtigt. Während bei den Sämlingen mit beidseitig gleichmäßig verwachsenen Keimblattspreiten in der Kotyledonarscheide stets 2 oder (seltener) mehr als 2 Bündel verlaufen, kann man bei den hier besonders interessierenden einseitig synkotylen Formen 1, 2 oder sogar 3 Stränge zählen, und zwar ohne eindeutigen Zusammenhang mit dem Verwachsungsgrad der Spreiten. So gibt es Sämlinge, bei denen eine einfache Spreite einer Kotyledonarscheide aufsitzt, die von 2 einander opponierten Strängen durchzogen wird (Abb. 3, *IV*). Wir haben daher die im folgenden zu schildernden verschiedenen Ausprägungen der 2,4-D-induzierten Synkotylie nach Zahl und Stärke der Bündel in der Kotyledonarscheide gruppiert.

2. Synkotyle Keimpflanzen mit zwei gleich starken Leitbündeln in der Kotyledonarscheide

Keimpflanzen, die wie die in Abb. 2 *IV—VI* u. in Abb. 4 gezeigten Beispiele gestaltet sind, weichen habituell und auch anatomisch am wenigsten von dem normalen Verhalten ab. Man erkennt deutlich, daß die beiden Keimblattspreiten einseitig mehr oder weniger weit verwachsen sind, ohne größere Veränderungen in der Innervierung.

Abb. 2. I normale und II—XII nach 2,4-D-Beeinflussung der jungen Embryonen veränderte Kotyledonen von *Eranthis*-Keimpflanzen

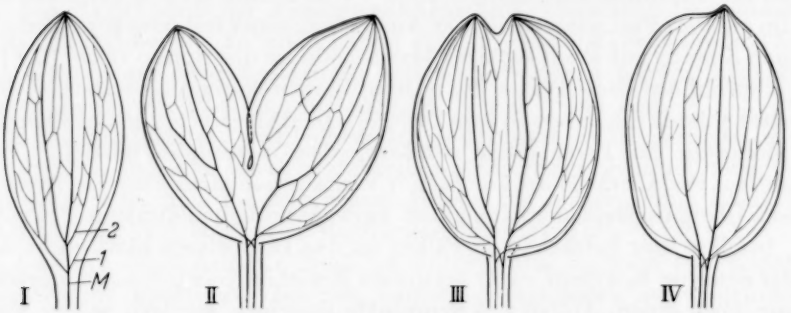


Abb. 3. Einzelne Keimblattspreite einer normalen *Eranthis*-Keimpflanze (I) und verschieden weit verwachsene Kotyledonen (II—IV) von auf frühen Embryonalstadien 2,4-D-behandelten Sämlingen

Im einfachsten Fall zeigen Keimwurzel, Hypokotyl und Kotyledonarscheide einen mit dem der normalen *Eranthis*-Keimlinge völlig übereinstimmenden Bau. Die beiden Hauptbündel stehen opponiert. Beim

Übergang in die Spreite weitet sich die Kotyledonarscheide zunächst etwas aus und öffnet sich dann, anstatt auf beiden, nur auf einer Seite, nach normaler „Überkreuzung" der ersten Seitennerven.

An einigen Exemplaren ist eine mit der Spreitenverwachsung korrespondierende gegenseitige Annäherung der beiden Hauptstränge zu beobachten, die sich bis in die Gestaltung der Wurzelstele hinein bemerkbar macht (Abb. 4, *II a—f* u. *III*).

Während die Spreitenvereinigung im ersten Fall immer unvollständig ist und die Kotyledonen dadurch bereits äußerlich als Verwachsungs-

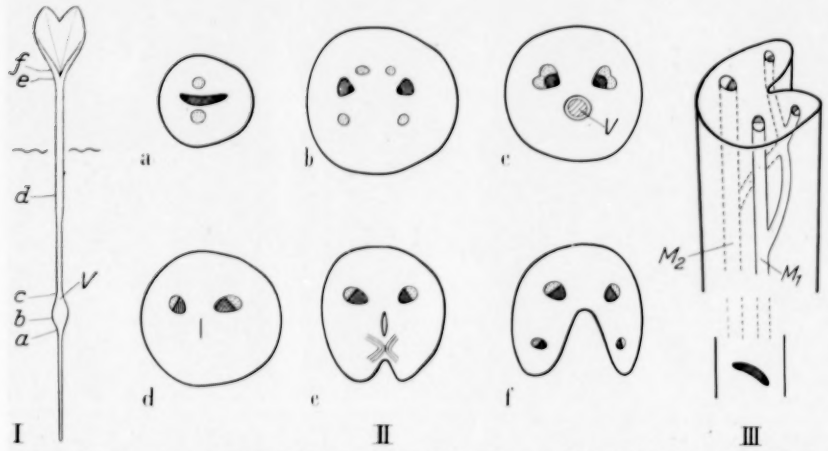


Abb. 4. Anatomie einer synkotylen *Eranthis*-Keimpflanze mit 2 gleich starken Leitbündeln in der Kotyledonarscheide (I) in Querschnitten (II) und in räumlicher Darstellung (III)

produkt erkennbar sind (Abb. 2, *IV—VI* und Abb. 3, *II* u. *III*), kommt es im zweiten Fall gelegentlich zur Ausbildung einer fast oder ganz einheitlichen Spreite mit einer einzigen Hydathode an der Spitze (Abb. 3, *IV*).

Obwohl auf diese Weise der äußere Eindruck eines einfachen Keimblattes entsteht, kann doch kein Zweifel sein, daß es sich um eine Pseudomonokotylie in Form einer *unimarginalen Synkotylie* handelt. Das beweisen vor allem die anatomischen Verhältnisse, aber auch die lückenlosen Übergangsreihen zu manifest verwachsenkeimblättrigen Formen.

In allen hier betrachteten Fällen ist das Doppelkeimblatt nicht wie jeder einzelne Kotyledo einer normalen *Eranthis*-Keimpflanze in gerader Linie über einem Pol der Xylemplatte inseriert, sondern seiner Entstehungsweise entsprechend in einer zwischen den beiden Xylempolen der Wurzelstele liegenden Stellung (Abb. 4, *III*).

3. Synkotyle Keimpflanzen mit 2 verschieden stark entwickelten Leitbündeln in der Kotyledonarscheide

Dem äußeren Erscheinungsbild nach (Abb. 2, *VII—IX*), gehören zu dieser Gruppe vor allem die Keimpflanzen mit einseitig mehr oder

weniger weitgehender tütenförmiger Verwachsung der Kotyledonen (= Gamokotylie).

Wie die schematische Darstellung in Abb. 5 zeigt, sind bereits die Xylempole im Hypokotyl verschieden stark entwickelt, entsprechend den an sie anschließenden Scheidenbündeln (*II a—d*). Der über eine kürzere oder längere Zone beidseitiger Verwachsung hin erfolgende Übergang in die Spreiten-Lamina weist eine im Gegensatz zu der schematischen Anordnung der Leitstränge bei den Beispielen der ersten Gruppe, ziemlich regellos erscheinende Innervierung auf.

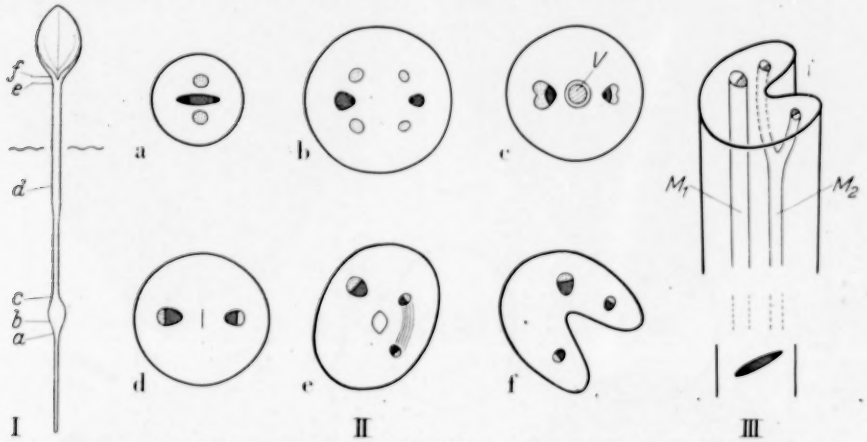


Abb. 5. Anatomie einer synkotylen *Eranthis*-Keimpflanze mit 2 verschieden stark entwickelten Leitbündeln in der Kotyledonarscheide (I) in Querschnitten (II) und in räumlicher Darstellung (III)

Bei näherer Untersuchung der verschiedenen Varianten sind jedoch für das Verständnis der Zusammenhänge aufschlußreiche Gemeinsamkeiten festzustellen. In allen Fällen tendiert das stärkere Bündel (M_1) aus seiner zum Scheiden-Lumen seitlichen Stellung heraus nach der Mitte der Spreiten-Lamina hin (Abb. 5, *II* e u. *f* und Abb. 7, *II*). Die „Überkreuzungsfigur" wird entweder gemeinsam durch seitliche Auszweigungen der verschieden starken Hauptstränge gebildet, oder sie fällt ganz weg, und das schwächere Bündel (M_2) übernimmt allein die Innervierung der laminalen Randzonen (Abb. 5, *III*).

Dadurch, daß sich die zunächst tütenförmig verwachsene Kotyledonarspreite nicht, wie bei den zuerst beschriebenen symmetrischen Synkotylen, zwischen den Hauptsträngen öffnet, sondern mehr im Bereich des schwächeren Bündels, kommt es zu einer bemerkenswerten Verschiebung der gesamten Symmetrie. Das stärkere Scheidenbündel wird mehr und mehr zur Mediane des kotyledonaren Verwachsungsproduktes, welches infolgedessen nicht nur in seinem Aussehen, sondern auch in seiner Stellung über dem einen Xylempol der Wurzelstele, einem einzelnen Keimblatt einer normal dikotylen Pflanze gleicht (Abb. 5, *III*).

4. *Synkotyle Keimpflanzen mit nur einem Leitbündel in der Kotyledonarscheide*

Anomale *Eranthis*-Sämlinge mit nur einer einfachen Keimblattspreite (Abb. 2, *II* u. *III*) weisen häufig (nicht immer!) auch nur ein Kotyledonarscheiden-Bündel auf, das dann als Medianus in die Spreite einzieht.

Die Innervierung der Öffnungszone und der Spreitenränder geschieht in diesen Fällen auf verschiedene Weise. Entweder verzweigen sich die Äste eines freientstandenen schwächeren Bündels oder Seitenstränge des Hauptbündels in die Spreitenränder hinein (Abb. 6, *III* und Abb. 7, *III* u. *IV*).

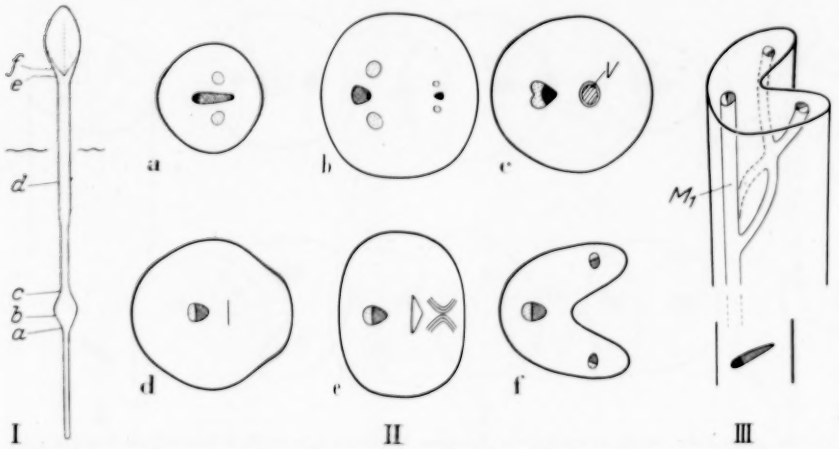


Abb. 6. Anatomie einer synkotylen *Eranthis*-Keimpflanze mit 1 Leitbündel in der Kotyledonarscheide (I) in Querschnitten (II) und in räumlicher Darstellung (III)

Wie die Mikrophotographie Abb. 7, *IV* deutlich erkennen läßt, ist das spaltförmige Kotyledonarscheiden-Lumen auch bei den synkotylen Varianten mit nur einem Medianbündel schräg zur Kotyledo-Mediane orientiert. Dadurch wird der Zusammenhang mit dem in Abb. 5 gezeigten asymmetrischen Synkotylie-Typ deutlich. Demnach gibt es eine lückenlose Übergangsreihe von Keimpflanzen mit 2 gleich starken, in die verwachsenen Kotyledonarspreiten einziehenden Leitsträngen über alle Reduktionsstufen des einen Bündels bis zu dessen völligem Verschwinden.

Wenn man die zuletzt besprochenen extrem anomalen Sämlinge mit nur einer einfachen Kotyledonarspreite unabhängig von den übrigen 2,4-D-induzierten Synkotylie-Formen betrachtet, könnte man auf Grund des Aussehens und der anatomischen Verhältnisse annehmen, daß es sich um eine „echte Monokotylie" handle. Unseres Erachtens spricht jedoch das Vorhandensein aller Übergangsformen zwischen den manifest verwachsenkeimblättrigen und den dem Aussehen nach einkeimblättrigen Formen gegen eine Auffassung, die den letzteren eine Sonderstellung zuweist.

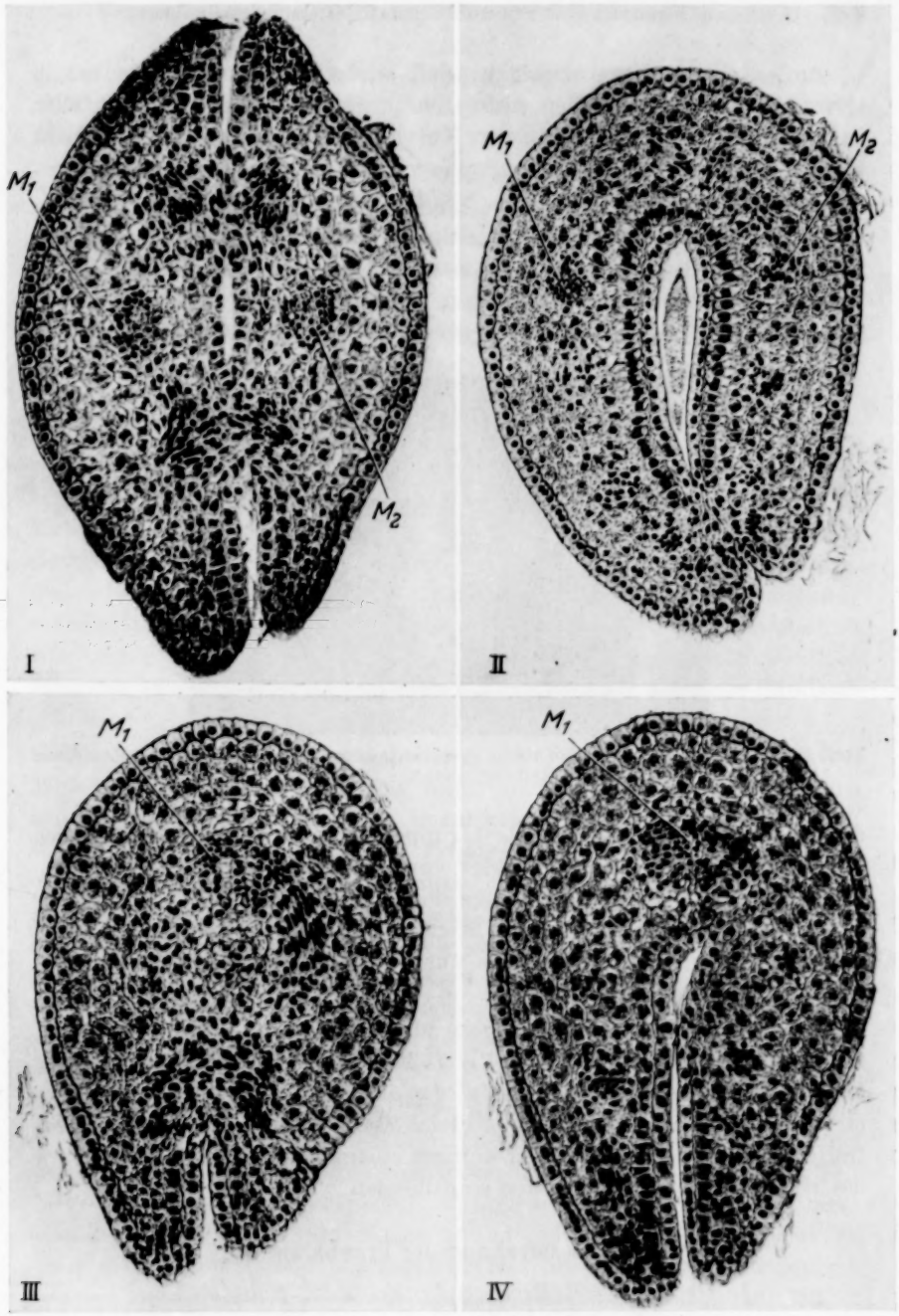


Abb. 7. I Querschnitt durch die Basis der Kotyledonarspreiten einer unveränderten *Eranthis*-Keimpflanze; II dasselbe von einer nach 2,4-D-Behandlung synkotylen Keimpflanze mit 2 verschieden starken Leitbündeln (M_1 u. M_2) in der Kotyledonarscheide; III u. IV aufeinanderfolgende Querschnitte durch die Spreitenbasis eines synkotylen Exemplars mit nur einem Leitbündel in der Kotyledonarscheide

Außerdem ist hervorzuheben, daß auch bei diesen (zahlenmäßig unter den 2,4-D-Anomalien nicht sehr hervortretenden) Extremfällen zunehmender Reduktion des einen Kotyledos die Keimblattspreite nicht einem einfachen Blattstiel, *sondern einer engen bis oben rings geschlossenen Kotyledonarscheide aufsitzt* (Abb. 8, *II* u. *III*).

Schließlich weisen auch entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen in die gleiche Richtung: In den ersten Stadien der Kotyledo-Anlegung unterscheiden sich die synkotylen 2,4-D-Varianten nur wenig von normal dikotylen *Eranthis*-Embryonen. Wie bei diesen befindet sich

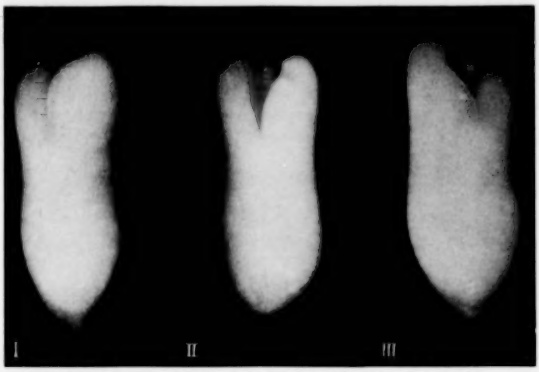


Abb. 8. Embryonen von *Eranthis hiemalis*, unbehandelt (I) und nach 2,4-D-Behandlung früher Embryonalstadien (II u. III)

der Sproßvegetationspunkt als Gruppe weniger, großkerniger Zellen in zentraler Lage am Grunde einer vom Kotylwall umgebenen Depression. Wenn er auch später, infolge der einseitigen Förderung des einen Kotyledonarpols etwas aus der Mitte verschoben erscheint, so bleibt er doch stets von der langen, bis zur Spreitenbasis sich erstreckenden Kotyledonarscheide umschlossen.

Fassen wir alle Beobachtungen zusammen, dann erscheint es uns richtig, die *eigentliche Folge der 2,4-D-Einwirkung auf Embryonen einer bestimmten Altersstufe in den kotyledonaren Verwachsungserscheinungen zu sehen.* wobei diese entweder 2 gleich starke Kotyledonaranlagen betreffen oder mit einer mehr oder weniger weitgehenden Unterentwicklung des einen Kotyledos verbunden sein können.

D. Besprechung der Ergebnisse

1. Über die Beeinflussung der Keimblatt-Entwicklung durch 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure

Gamophyllien nach 2,4-D-Behandlung sind von zahlreichen Pflanzenarten beschrieben worden. Entstehungsweise und Homologisierung

derartiger Mißbildungen, sowie die einschlägige Literatur haben wir in einer früheren Veröffentlichung (HACCIUS u. SCHNEIDER 1958) bereits ausführlich diskutiert.

Relativ selten wurden 2,4-D-induzierte Kotyledo-Verwachsungen beobachtet, was damit zusammenhängt, daß sie im allgemeinen nach Samenbehandlung nicht zu erwarten sind, da, von wenigen Ausnahmen (*E. hiemalis* und einige andere Frühblüher) abgesehen, in den reifen Samen die Kotyledonen bereits angelegt und nicht mehr morphogenetisch beeinflußbar sind. Dies ist vor allem durch Untersuchungen von HANF (1950) und von GAVAUDAU, DEBRAUX u. BONNENFANT (1953) gezeigt worden.

Nur wenn der 2,4-D-Einfluß auf noch undifferenzierte Embryonen trifft, kommt es auch im Kotyledonarbereich zu den für diese Substanz typischen Entwicklungsanomalien. So erhielten MCILRATH, ERGLE u. DUNLAP (1951) aus den Samen 2,4-D-gespritzter Baumwollpflanzen einige synkotyle Keimpflanzen. Eine ähnliche Beobachtung an *Helianthus annuus* hat SCHUSTER (1956) zu einer eingehenderen Untersuchung veranlaßt. In wiederholten Versuchen wurden in der Nachkommenschaft von kurz vor oder während der Blüte mit 2,4-D-behandelten *Helianthus*-Pflanzen zahlreiche synkotyle oder anderweitig mißgebildete Sämlinge gefunden.

Für eine genauere Untersuchung des Phänomens ist jedoch die Methode der Blütenbehandlung nicht so gut geeignet, weil es nach unseren Erfahrungen ein noch ungelöstes Problem ist, Wirkstoff-Lösungen durch Blütenhüllen und Fruchtknotenwand hindurch an ganz bestimmte Embryonalstadien heranzubringen. Bei der Verwendung von *Eranthis*-Samen sind diese Schwierigkeiten zwar nicht ganz behoben, aber doch wesentlich geringer. Wie die vorangehenden Ausführungen gezeigt haben, ist es bei einer genügend großen Zahl gleichzeitig geernteter Samen möglich, durch die richtige Wahl des Behandlungstermins einzelne, ziemlich genau definierbare Entwicklungsstadien der Embryonen zu treffen.

So konnten wir feststellen, daß Keimblattverwachsungen der hier geschilderten Art nur an Embryonen induziert werden können, bei denen die (der Anlegung der Kotyledonen vorangehende) erhöhte Teilungsaktivität in den peripheren, apikalen Bereichen des noch birnförmigen Embryos bereits eingesetzt hat. Die sensible Phase ist zu Ende, wenn die Kotyledonaranlagen als Hervorwölbungen mikroskopisch deutlich erkennbar sind. Entsprechende Ergebnisse haben wir früher (HACCIUS u. SCHNEIDER 1958) bezüglich der 2,4-D-induzierten tüten- oder urnenförmigen Laubblatt-Verwachsungen bei *Galium aparine* berichtet. Man vergleiche hierzu auch die Untersuchungen von LINSER

u. Kirschner (1957) an den Fiederblättern von *Erodium cicutarium* und von Kiermayer (1958) an den Blüten von *Solanum nigrum*.

Offen bleibt vorläufig noch die Frage nach den speziellen Entstehungsbedingungen der hier geschilderten *verschiedenen* Verwachsungstypen der Kotyledonen. Die Entscheidung, ob es zu einer einseitigen Verwachsung mit oder ohne Reduktion des einen Kotyledos kommt, hängt wahrscheinlich ebenfalls mit dem vom Wirkstoffeinfluß getroffenen Entwicklungszustand zusammen. Es kommen aber auch noch andere Faktoren in Frage wie z. B. die Dauer und Konzentration der 2,4-D-Einwirkung. Versuche zur Beantwortung dieser Fragen werden zur Zeit bearbeitet.

2. Vergleich der experimentell synkotylen Keimpflanzen mit normalerweise nur ein Keimblatt ausbildenden Sämlingen und ähnlich gestalteten spontan auftretenden Anomalien

a) Unter den Ranunculaceen sind folgende normalerweise nur ein Keimblatt ausbildende Arten bekannt: *Ranunculus Ficaria*, *Ranunculus glacialis* und *Anemone apennina*. Während alle drei Arten mit *Eranthis* die Frühreife der Samen (mit noch undifferenziertem Embryo) gemeinsam haben, ist die extrem geophile Keimungsweise nur bei den Sämlingen von *A. apennina* verwirklicht. Diese zeigen infolgedessen äußerlich sehr große Ähnlichkeit mit *Eranthis*-Sämlingen, zumal die Kotyledonarspreite bei *A. apennina* zumeist zweiteilig gestaltet ist. Anatomie und Entwicklungsgeschichte der *A. apennina*-Keimpflanzen lehren jedoch, daß hier nur ein Keimblatt angelegt und ausgebildet wird (Haccius u. Fischer 1959).

Obwohl die nach 2,4-D-Behandlung beobachteten, mit nur einer einfachen Kotyledonarspreite ausgestatteten synkotylen *Eranthis*-Keimpflanzen (Abb. 2, *II—III*) ebenso wie diejenigen von *A. apennina* nur ein in das Keimblatt führendes Stielbündel aufweisen, unterscheiden sie sich doch in folgender Beziehung sehr entscheidend von diesen: Der bei *E. hiemalis* bereits am birnförmigen Embryo erkennbare zukünftige Kotyledonarbereich wächst, bei allen synkotylen 2,4-D-Morphosen, als zwar einseitig erhöhter, aber den zentralen Sproßvegetationspunkt von vorneherein rings umschließender Ringwall aus, während bei *A. apennina* das Kotyledonarprimordium als einseitig schräg nach außen weisende Hervorwölbung beginnt, deren Basis erst sekundär und allmählich den Sproßvegetationspunkt umwächst.

Mit dieser unterschiedlichen Beanspruchung des Embryo-Apex bei der Keimblatt-Anlegung hängt weiterhin zusammen, daß die Sproßknospe bei den synkotylen 2,4-D-Morphosen von *Eranthis*, ebenso wie bei den normalen Pflanzen, beim Austreiben die (dann allerdings bereits verrottete) Kotyledonarscheide durchbrechen muß, während sie bei

A. apennina aus der stets offenbleibenden, kurzen scheidigen Basis des Keimblattstiels herauszuwachsen vermag. Keine der von uns bisher untersuchten „monokotylen Dikotylen-Arten" besitzt eine lange, bis zur Spreite sich erstreckende Kotyledonarscheide, obwohl in einigen Fällen (z. B. *Bunium bulbocastanum* und *Conopodium maius*) nah verwandte zweikeimblättrige Arten lange, ebenso wie bei *E. hiemalis* gestaltete Kotyledonarscheiden aufweisen.

Während also bei *A. apennina* und den anderen einkeimblättrigen Dikotylen *Monokotylie* vorliegt, insofern als zunächst nur ein Teil des peripheren Bereichs des Embryo-Apex bei der Kotyledoanlegung beansprucht wird, halten wir es aus den oben angeführten Gründen für richtig, bei den nach 2,4-D-Behandlung auftretenden einkeimblättrigen *Eranthis*-Varianten von *Synkotylie* zu sprechen, auch dann, wenn die Verwachsungserscheinungen mit einer sehr weitgehenden Reduktion des einen Kotyledos verbunden sind. Wie bereits kurz mitgeteilt (Haccius 1959), läßt sich bei *E. hiemalis* Monokotylie in Form eines totalen Kotyledo-Ablastes ohne gleichzeitige Verwachsungsprozesse ebenfalls experimentell induzieren.

b) Zum Schluß sei noch kurz auf die gelegentlich als Mutanten oder Varianten auftretenden anomal synkotylen Keimpflanzen verschiedener Dikotylen-Arten hingewiesen. Wir beziehen uns vor allem auf Arbeiten von Holden (1920) und Holden u. Daniels (1921) über *Impatiens Roylei*, von Bexon (1925) über *Sinapis alba* und *Brassica oleracea* und von Pellegrini (1957) über *Dianthus cariophyllus*. Die genannten Veröffentlichungen lassen keinen Zweifel darüber, daß es sich bei allen diesen anatomisch eingehender bearbeiteten Anomalien um eine mehr oder weniger weitgehende kongentiale Keimblattvereinigung handelt, durchaus vergleichbar mit den experimentell induzierten Synkotylie-Formen bei *E. hiemalis*. Eigene unveröffentlichte Untersuchungen an spontan anomalen Sämlingen von *Ranunculus gramineus* und verschiedenen *Anemone*-Arten weisen in die gleiche Richtung. Auch Rothe (1951) kommt nach sehr gründlicher Analyse einer „sich variabel manifestierenden" monokotylen Mutation von *Antirrhinum majus* zu dem Ergebnis, „daß das Zustandekommen der monokotylen Typen auf der Grundlage der Synkotylie erfolgt sein muß". Den Folgerungen, die die Verfasserin bezüglich der Einkeimblättrigkeit der Monokotylen zieht, möchten wir uns jedoch nicht anschließen, überhaupt ist vor Verallgemeinerungen auf diesem durchaus noch nicht in genügender Breite untersuchten Gebiet zu warnen.

Zusammenfassung

1. Bei *Eranthis hiemalis* erhält man nach Behandlung bestimmter Embryonalstadien mit 2,4-D-Lösungen (200—600 ppm) einen hohen Prozentsatz an anomal verwachsenkeimblättrigen Sämlingen.

2. Die Anatomie dieser 2,4-D-Morphosen wird untersucht und eine lückenlose Übergangsreihe festgestellt von Synkotylen mit 2 gleich starken Leitbündeln in der Kotyledonarscheide über solche mit verschieden entwickelten Bündeln bis zu „monokotyl" erscheinenden Exemplaren mit nur einem Medianstrang. Auch in den zuletzt genannten Extremfällen zunehmender Reduktion des einen Kotyledos sitzt die Keimblattspreite nicht einem einfachen Blattstiel, sondern einer langen bis oben rings geschlossenen Scheide auf.

3. Als die eigentliche Folge der 2,4-D-Einwirkung auf *Eranthis*-Embryonen einer bestimmten Altersstufe werden die kotyledonaren Verwachsungserscheinungen angesehen, während es wahrscheinlich von zusätzlichen Faktoren abhängt, ob dabei 2 gleich starke Anlagen betroffen werden oder ob es zugleich zu einer mehr oder weniger weitgehenden Unterentwicklung des einen Kotyledos kommt.

4. Die für die Induktion von Synkotylie sensible Phase der Embryoentwicklung setzt mit dem Beginn einer erhöhten Teilungstätigkeit in den Kotyledonarpolen des noch birnförmigen Embryos ein und endet mit der ersten mikroskopisch sichtbaren Hervorwölbung der Primordien.

5. Die hier behandelten 2,4-D-Morphosen unterscheiden sich anatomisch und entwicklungsgeschichtlich sehr einschneidend von den Keimpflanzen bisher untersuchter normalerweise einkeimblättriger Dikotylen-Arten, während sie in vielen Zügen mit synkotylen Varianten oder Mutanten normalerweise zweikeimblättriger Arten übereinstimmen.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die wirksame Unterstützung der vorliegenden Untersuchungen.

Literatur

BEXON, B.: Observations on the anatomy of teratological seedlings. Ann. Bot. **39**, 25 (1925). — GAVAUDAN, P., G. DEBRAUX et A. BONNENFANT: La gamocotylie experimentale. C. R. Trav. Lab. Biol. Vég. Fac. Sci. Poitiers Nr 4 (1953). — HACCIUS, B.: Verbreitung und Ausbildung der Einkeimblättrigkeit bei den Umbelliferen. Öst. bot. Z. **99**, 483 (1952). – Histogenetische Untersuchungen an Wurzelhaube und Kotyledonarscheide geophiler Keimpflanzen (*Podophyllum und Eranthis*). Planta (Berl.) **41**, 439 (1953). — Embryologische und histogenetische Studien an „monokotylen Dikotylen" I. *Claytonia virginica* L. Öst. bot. Z. **101**, 285 (1954). — Versuche zur somatischen Beeinflussung der Organbildung pflanzlicher Embryonen. Experientia (Basel) **11**, 194 (1955a). — Experimentally induced twinning in plants. Nature (Lond.) **176**, 355 (1955b). — Regenerationserscheinungen an pflanzlichen Embryonen nach Behandlung mit antimitotisch wirksamen Substanzen. Beitr. Biol. Pflanz. **34**, 3 (1957). — Morphoregulatorische Beeinflussung pflanzlicher Embryonen durch Phenylborsäure. Naturwiss. **46**, 153 (1959). — HACCIUS, B., u. E. FISCHER: Embryologische und histogenetische Studien an „monokotylen Dikotylen". III. *Anemone apennina* L. Öst. bot. Z. **106**, 373 (1959). — HACCIUS, B., u. E. HARTL-BAUDE: Embryologische und histogenetische Studien an „monokotylen Dikotylen". II. *Pinguicula vulgaris* L.

und *Pinguicula alpina* L. Öst. bot. Z. **103**, 567 (1956). — Haccius, B., u. W. Schneider: Untersuchungen zur Stadienspezifität des teratogenen Effektes der 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure bei *Galium aparine*. Planta (Berl.) **52**, 206 (1958). — Hanf, M.: Keimung von Unkräutern und Kulturpflanzen nach Behandlung des Bodens mit 2,4-D-Mitteln. Nbl. Dtsch. Pflanzen-Schutzdienst **2**, H. 6 (1950). — Holden, H. S.: On the anatomy of some atypical seedlings of *Impatiens Roylei* Walp. Ann. Bot. **34**, 321 (1920). — Holden, H. S., and M. E. Daniels: Observations on the anatomy of teratological seedlings of *Impatiens Roylei* Walp. Ann. Bot. **35**, 461 (1921). — Kiermayer, O.: Induktion von Eingeschlechtigkeit sowie Gamophyllie an Blüten durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure. Planta (Berl.) **52**, 393 (1958). — Linser, H., u. R. Kirschner: Zur Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. I. Die Einwirkung von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure auf *Erodium cicutarium*. Planta (Berl.) **50**, 211 (1957). — McIlrath, W. J., D. R. Ergle and A. A. Dunlap: Persistance of 2,4-D-stimulus in cotton plants with reference to its transmission to the seed. Bot. Gaz. **112**, 511 (1951). — Pellegrini, O.: Studio ed interpretatazione di alcuni anomalie cotiledonari in plantule di *Dianthus cariophyllus* L. Delpinoa (Napoli) **10**, 121 (1957). — Rothe, H.: Morphologisch-entwicklungsgeschichtliche und genetische Analyse einer sich variabel manifestierenden Mutation von *Antirrhinum majus* L. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **84**, 74 (1951). — Schuster, W.: Untersuchungen über die Wirkung der 2,4-D und der α-NAA auf die Blüte und den Samen der Sonnenblume sowie die Nachwirkungen in den folgenden Generationen. Züchter **26**, 78 (1956).

Prof. Dr. B. Haccius,
Botanisches Institut der Universität, Mainz

Planta 54, 482—497 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Mainz

EXPERIMENTELL INDUZIERTE EINKEIMBLÄTTRIGKEIT BEI *ERANTHIS HIEMALIS*

II. MONOKOTYLIE DURCH PHENYLBORSÄURE

Von

BARBARA HACCIUS

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Dezember 1959)

In der vorausgehenden Veröffentlichung (HACCIUS u. TROMPETER) konnten wir zeigen, daß nach 2,4-D-Behandlung bestimmter Embryonalstadien von *Eranthis hiemalis* zahlreiche Sämlinge mit ein- oder zweiseitig verwachsenen Kotyledonarspreiten gefunden werden. Die für *Eranthis*-Keimpflanzen typische sehr lange Kotyledonarscheide ist bei diesen 2,4-D-Morphosen stets normal ausgebildet, so daß wir es für richtig hielten, in allen diesen Fällen von verwachsen-keimblättrigen (= synkotylen) Keimen zu sprechen. Monokotylie in dem Sinne, daß am Embryo-Apex nur einer der beiden Kotyledonarpole zu einem Primordium auswächst, während der gegenüberliegende Bereich anlagefrei bleibt, ließ sich weder durch 2,4-D-Behandlung noch durch Anwendung anderer als morphogenetisch wirksam bekannter Substanzen (TIBA, α-NAA usw.) erzielen.

Im Mai 1957 haben wir zum erstenmal Versuche mit Phenylborsäure durchgeführt. Wie bereits kurz mitgeteilt (HACCIUS 1959a), treten nach Behandlung noch undifferenzierter *Eranthis*-Embryonen mit geeignet konzentrierten Phenylborsäure-Lösungen unter anderem hohe Prozentsätze an einkeimblättrigen Sämlingen auf. Diese unterscheiden sich von den oben erwähnten 2,4-D-Morphosen dadurch, daß die (nur in Einzahl vorhandene) Kotyledonarspreite vielfach *nicht einer geschlossenen Kotyledonarröhre aufsitzt, sondern einem einfachen Kotyledonarstiel.*

Da es sich hier um einen Effekt handelte, den wir mit keinem der bisher an *Eranthis*-Embryonen geprüften Wirkstoffe bekommen hatten, wurden die Versuche in den nächsten Jahren in größerem Umfang wiederholt und die Anomalien entwicklungsgeschichtlich und anatomisch genauer untersucht. Über die Ergebnisse soll im folgenden berichtet werden.

A. Methoden zur Gewinnung phenylborsäure-induzierter Kotyledo-Anomalien

Einzelheiten über die allgemeinen Voraussetzungen und Methoden zur morphogenetischen Beeinflussung der Embryogenese von *Eranthis hiemalis* sind in früheren Publikationen nachzulesen (HACCIUS 1953, 1955 u. 1957b).

Bei der verwendeten Phenylborsäure handelte es sich zunächst um Laboratoriumspräparate, die uns Herr Dr. NEU (Karlsruhe) und Herr Prof. WIELAND (Frankfurt) freundlicherweise zur Verfügung gestellt hatten. Zur Zeit verwenden wir ein käufliches Präparat der Firma Heyl & Co. (Berlin-Steglitz).

Frisch geerntete *Eranthis*-Samen mit noch undifferenzierten Embryonen wurden zu je 200 Stück für viermal 24 Std in Phenylborsäure-Lösungen abgestufter Konzentrationen (20—2500 ppm) eingelegt und dann nach sorgfältigem Waschen in Blumentöpfe ausgesät. Für die einzelnen Versuchsserien fanden jeweils nur Samen gleicher Herkunft und gleichen Ernte-Datums Verwendung.

Während der vom Mai bis zum Dezember dauernden Embryoentwicklung wurden, zunächst in zweitägigen, später in größeren Abständen, Proben entnommen und der Zustand der Keime makroskopisch und anatomisch genau untersucht. Fixierung nach PETRUNKEWITSCH (JOHANSEN 1940, S. 41); Färbung mit Hämatoxylin nach DELAFIELD.

In den Abbildungen werden folgende Abkürzungen verwendet: *V* Sproßvegetationspunkt, *Co* Kotyledo, *S* Suspensor, f_1 erstes Laubblatt.

B. Ergebnisse der Versuche

Für die Registrierung der nach Phenylborsäure-Behandlung undifferenzierter *Eranthis*-Embryonen auftretenden Sämlingsanomalien unterscheiden wir folgende Typen.

a) Unspezifische Anomalien. 1. Syn- oder trikotyle Sämlinge von der Art, wie sie in geringen Prozentsätzen (0,3—0,5%) stets auch unter den unbehandelten Kontrollen gefunden werden (HACCIUS 1955).

2. Totale Entwicklungshemmung mit oder ohne Regeneration.

Nach Anwendung höherer Phenylborsäure-Konzentrationen kommt es bei einem Teil der Keime zum Absterben nach endgültigem Aufhören jeder Teilungsaktivität. In einigen Fällen erweisen sich jedoch die Suspensorzellen als widerstandsfähiger, indem sie die Teilungstätigkeit neu aufzunehmen vermögen (Abb. 1I). Dann kommt es zur Ausbildung von suspensorbürtigen Adventiv-Embryonen (Abb. 1II und III). Diese sind zwar gelegentlich anomal ausgebildet, häufiger jedoch vollkommen normal gestaltet, so daß wir sie zuerst fälschlich als „unbeeinflußt" registriert haben. Der bis zum Auskeimen als winziges braunes Anhängsel erkennbare ursprüngliche Embryokörper wird dann abgestreift. Die Keimung erfolgt gleichzeitig mit den Kontrollen.

Ähnliche Erscheinungen haben wir nach Einwirkung verschiedener Cytostatica beobachtet und beschrieben (HACCIUS 1957a u. b und 1959b). Allerdings fungiert hier nicht so sehr der Suspensor, sondern mehr die Basis des eigentlichen Embryokörpers als Bildungsort der Adventiv-Keime.

b) Typische Phenylborsäure-Anomalien. Die im folgenden zu schildernden Bildungsabweichungen wurden bisher ausschließlich nach Phenylborsäure-Anwendung beobachtet, obwohl wir etwa 50 verschiedene, als biologisch wirksam bekannte Substanzen in unsere Untersuchung einbezogen haben.

1. Chorikotylie. Keime mit zwei gleichen, im Stielbereich ein- oder beidseitig freien (= nicht scheidig verwachsenen) Kotyledonen (Abb. 2 I und II).

2. Anisokotylie. Chorikotyle Keime mit einem normalen und einem, nicht nur im Spreitenbereich, sondern insgesamt stark unterentwickelten Kotyledo (Abb. 2 III und IV).

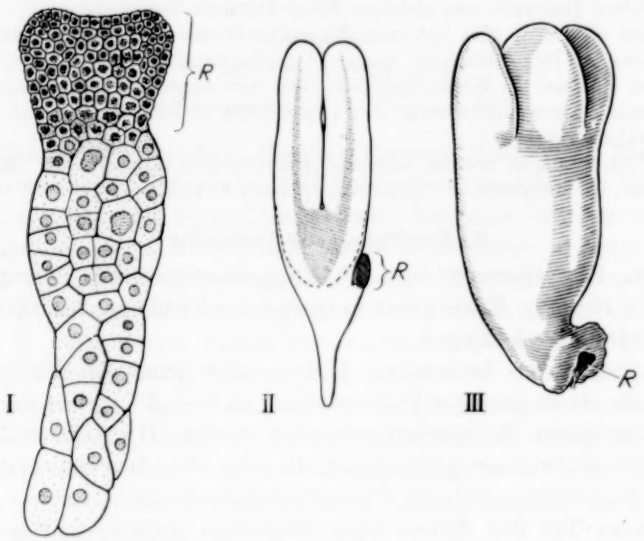


Abb. 1. Embryonen von *Eranthis hiemalis* nach Einwirkung höherer Dosen von Phenylborsäure, der eigentliche Embryokörper (*R*) stirbt ab, und aus dem Suspensor bilden sich Adventiv-Embryonen. I und II Längsschnitte; III trikotyler Adventiv-Embryo

3. Monokotylie. Keime mit nur einem einfachen, gestielten Kotyledo (Abb. 2 V—IX).

4. Akotylie. Keime ohne Kotyledonen und mit vorzeitig entwickelter Plumula (Abb. 2 X—XII).

In den folgenden Tabellen sind Versuchsergebnisse der Jahre 1958 (Tabelle 1) und 1959 (Tabelle 2) wiedergegeben. Den Prozentzahlen der Tabelle 1 entsprechen jeweils 170—200 Probanden, während von der diesjährigen Versuchsserie erst je 70—80 Embryonen ausgewertet werden konnten.

In beiden Fällen waren Phenylborsäure-Konzentrationen unter 150 ppm fast oder ganz unwirksam. Nach Anwendung höherer Konzentrationen (2500 ppm und darüber) überwogen die abgestorbenen oder nachträglich erneuerten Keime (Abb. 1), womit sich dieser Konzentrationsbereich in seiner Wirkungsweise auf die Embryoentwicklung als überwiegend toxisch erwies.

Die Verteilung der eigentlichen Phenylborsäure-Anomalien stimmt in den beiden Versuchen recht gut überein. Das Maximum liegt im

Abb. 2. Embryonen von *Eranthis hiemalis* nach Einwirkung von Phenylborsäure. I und II Chorikotylie; III und IV Anisokotylie; V—IX Monokotylie; X—XII Akotylie

Tabelle 1. *Von 170—200 untersuchten Keimpflanzen waren in Abhängigkeit von der Phenylborsäurekonzentration:*

	Phenylborsäure							
	2500 ppm	1200 ppm	600 ppm	300 ppm	150 ppm	75 ppm	40 ppm	20 ppm
Normal ausgebildet . . .	0%	0%	9%	39%	71%	88%	96%	97%
Unspezifische Anomalien:								
syn- oder trikotyl . . .	0	0	0	11	4	5	3	3
totalgehemmt (mit oder ohne Regeneration)	51 } 51%	25 } 25%	9 } 9%	2 } 13%	6 } 10%	2 } 7%	0 } 3%	0 } 3%
Phenylborsäure-Anomalien:								
chorikotyl . .	6	4	6	6	5	1	0	0
anisokotyl . .	3	8	8	11	6	3	1	0
monokotyl .	13 } 49%	38 } 75%	68 } 82%	31 } 48%	8 } 19%	1 } 5%	0 } 1%	0 } 0%
akotyl . . .	27	25	0	0	0	0	0	0

Bereich zwischen 600 und 1200 ppm Phenylborsäure, wobei der größte Anteil speziell an monokotylen Keimen in beiden Fällen nach Anwendung einer 600 ppm-Lösung gefunden wurde. Synkotyle Embryonen von der Art, wie sie auch nach 2,4-D-Einwirkung vorkommen (vgl. HACCIUS u. TROMPETER), traten ebenfalls bei beiden Versuchen, und zwar ausschließlich nach Anwendung niedrigerer Konzentrationen (300 ppm und darunter) auf.

Tabelle 2. *Von 70—80 untersuchten Embryonen waren in Abhängigkeit von der Phenylborsäurekonzentration:*

	Phenylborsäure							
	2500 ppm	1200 ppm	600 ppm	300 ppm	150 ppm	75 ppm	40 ppm	20 ppm
Normal ausgebildet . . .	0%	0%	8%	46%	88%	95%	98%	99%
Unspezifische Anomalien:								
syn- oder trikotyl . . .	0	0	0	7	2	4	2	1
totalgehemmt (mit oder ohne Regeneration)	52 } 52%	34 } 34%	8 } 8%	2 } 9%	2 } 4%	0 } 4%	0 } 2%	0 } 1%
Phenylborsäure-Anomalien:								
chorikotyl . .	4	4	9	7	2	0	0	0
anisokotyl .	6	7	8	13	6	1	0	0
monokotyl .	12 } 48%	35 } 66%	65 } 84%	25 } 45%	0 } 8%	0 } 1%	0 } 0%	0 } 0%
akotyl . . .	26	20	2	0	0	0	0	0

C. Entwicklungsgeschichte und Anatomie der nach Phenylborsäure-Applikation auftretenden Keimlings-Anomalien

1. Monokotyle Keimpflanzen

In Abb. 3 ist eine vollentwickelte *Eranthis*-Keimpflanze dargestellt, die nach rechtzeitiger Phenylborsäure-Behandlung nur einen Kotyledo ausgebildet hat. Wie wir auf Grund der Tabellen 1 und 2 zeigen konnten, handelt es sich hier um eine Bildungsabweichung, die nach Anwendung einer 600-ppm-Lösung bei 60—70% der Embryonen induziert werden kann. Rein äußerlich besteht Ähnlichkeit mit auch nach 2,4-D-Einwirkung auftretenden extrem synkotylen Varianten.

Abb. 3. Phenylborsäure-induzierte Monokotylie bei *Eranthis hiemalis*, ausgewachsene Keimpflanze. *Ri* Rinne an der Basis der Kotyledonarspreite

Wie einleitend bereits erwähnt, sind jedoch bei näherer Betrachtung tiefgreifende Unterschiede vor allem im Stielbereich des Kotyledos festzustellen. Es ist keine bis oben geschlossene Kotyledonarscheide entwickelt (Abb. 2 VII—IX und Abb. 3). Damit hängt zusammen, daß die Spreitenränder sich nicht an der Spreitenbasis vereinigen, sondern entlang einer flachen Rinne auf den Kotyledonarstiel verlaufen (*Ri* in Abb. 3).

Während bei den synkotylen 2,4-D-Morphosen, ebenso wie bei den normalen *Eranthis*-Keimpflanzen, der stets von der Kotyledonarscheide rings umschlossene Sproßvegetationspunkt zunächst nur aus einem Komplex weniger, besonders großkerniger Zellen besteht (V in Abb. 8 I), entwickelt sich bei den monokotylen Phenylborsäure-Anomalien bereits während der Embryoreifung eine Plumula mit Laubblattanlagen (Abb. 2 VI—VIII, Abb. 6 II, Abb. 7 III und Abb. 8 III).

Die entwicklungsgeschichtliche Reihe der Abb. 4 I—IV läßt erkennen, daß sich nach Phenylborsäure-Einwirkung auf den noch undifferenzierten Embryo nur 1 Kotyledonarpol weiterentwickelt, während der andere von vorneherein und für dauernd total gehemmt bleibt. Der zunächst seiner lateralen Entstehung entsprechend abgeflachte Stiel des einzigen Keimblatts rundet sich später durch ventralen Zuwachs (Abb. 4 III und IV). Aus einem Vergleich der Längsschnitte Abb. 7 I und III und Abb. 8 I und III wird die mit dem völligen Ablast des einen Kotyledos korrelierende verfrühte Anlegung des ersten Plumularorgans erkennbar.

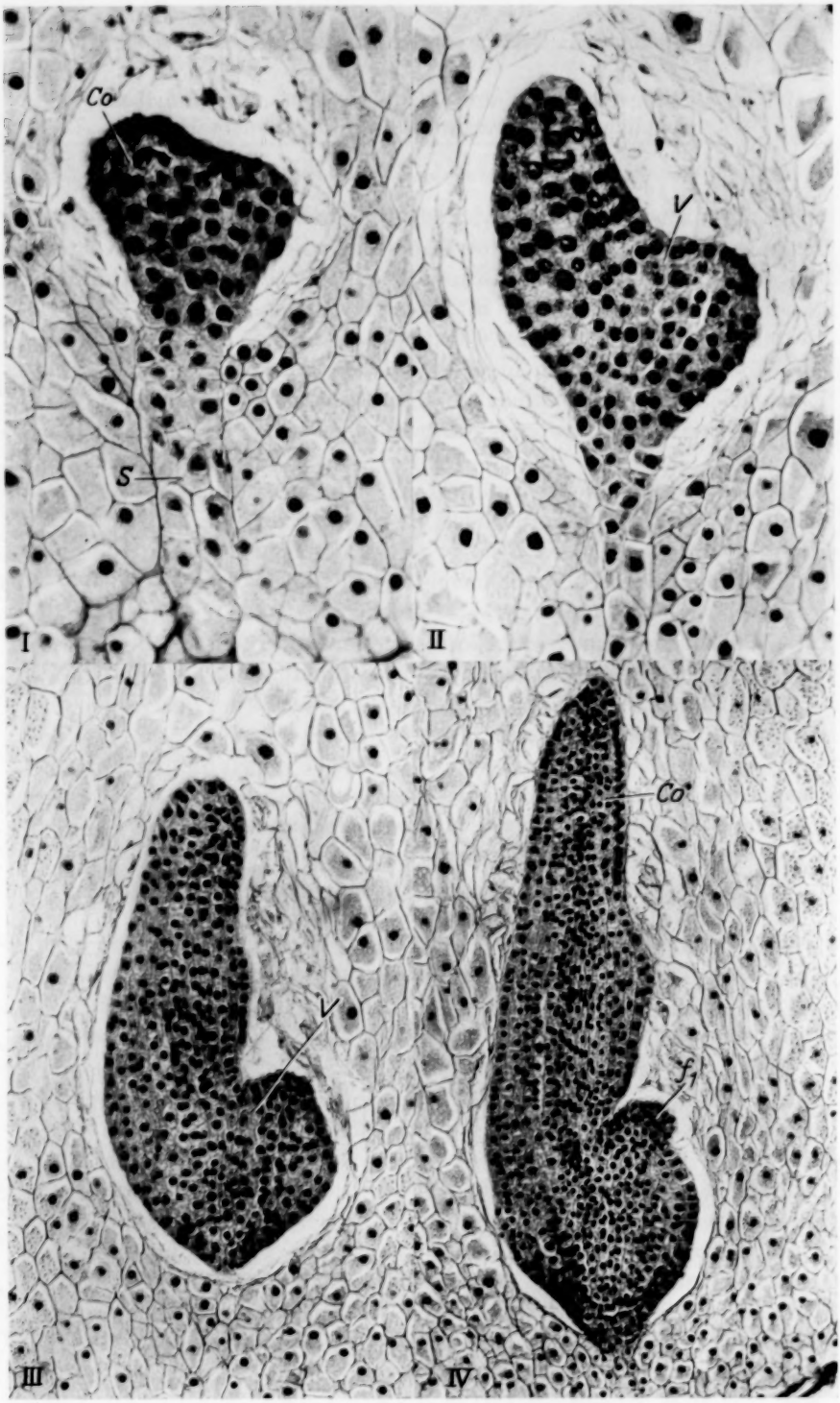


Abb. 4. Längsschnitte von nach Phenylborsäure-Anwendung einkeimblättrig weiterwachsenden Embryonen von *Eranthis hiemalis*. Fixierung: 29. Mai (I), 18. Juni (II), 22. Juli (III) und 12. August (IV)

Ein Querschnitt durch die Sproßspitze einer ausgewachsenen monokotylen Keimpflanze (Abb. 6 II) zeigt, daß die Basis des Kotyledos die Plumula etwas umgreift, aber nicht rings umschließt. Das einzige Bündel, das in den Kotyledonarstiel einzieht, unterscheidet sich in Zusammensetzung und Orientierung seiner Elemente nicht von einem

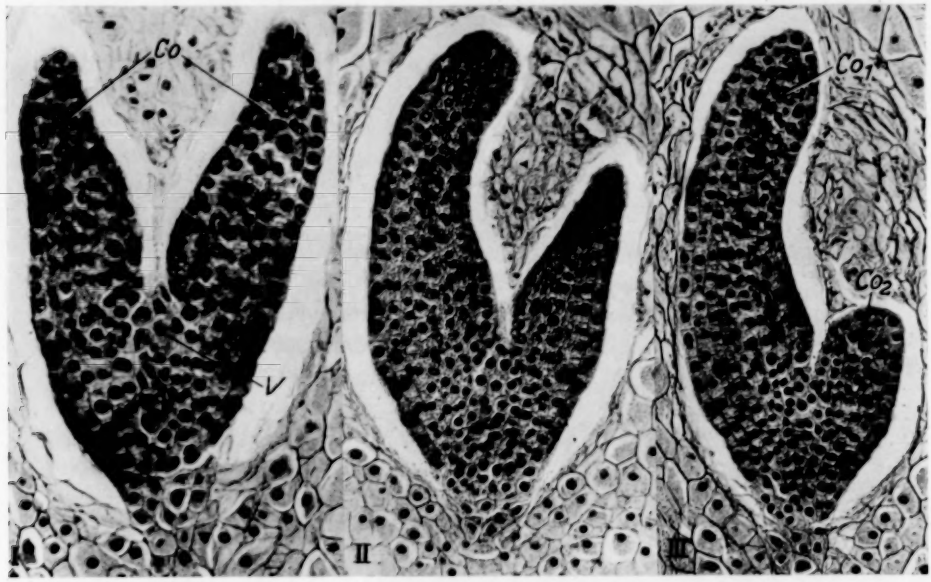


Abb. 5. Phenylborsäure-induzierte Chorikotylie (I) und Anisokotylie (II und III) bei *Eranthis hiemalis* (Längsschnitte noch nicht voll entwickelter Embryonen)

der beiden Leitstränge, die man in den Kotyledonarscheiden normaler *Eranthis*-Keimpflanzen findet. Auch der im Bereich des Knöllchens stattfindende Übergang von der Wurzelstele in das kollaterale Stielbündel gleicht im wesentlichen demjenigen normaler Sämlinge, nur daß in diesem Fall beide Stelen-Pole und in jenem nur einer beteiligt ist.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß Entwicklungsgeschichte und Anatomie eindeutig dafür sprechen, daß es sich bei den geschilderten Phenylborsäure-Morphosen um Keimpflanzen handelt, bei denen von vornherein nur ein einfacher Kotyledo angelegt und ausgebildet ist und daß keinerlei Anzeichen auf eine kongenitale Kotyledo-Verwachsung hinweisen.

2. Chori- und anisokotyle Keimpflanzen

Der Befund, daß es sich bei den monokotylen Phenylborsäure-Morphosen nicht wie bei den äußerlich ähnlichen 2,4-D-Anomalien um

Synkotylie, sondern um bis zum völligen Ablast des einen Kotyledos gesteigerte Anisokotylie handelt, wird bestätigt bei Betrachtung der in

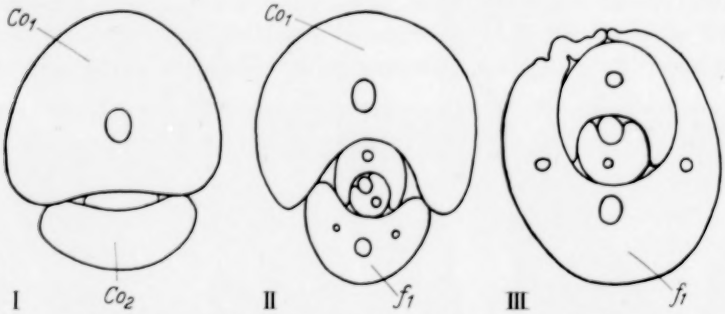


Abb. 6. Querschnitte durch einen anisokotylen (I), einen monokotylen (II) und einen akotylen (III) Embryo von *Eranthis hiemalis*

beiden Versuchen (Tabellen 1 und 2) registrierten lückenlosen Übergangsreihe von lediglich chorikotylen Exemplaren über Anisokotyle aller Grade bis zu den eigentlichen Monokotylen. In Abb. 5 I—III ist eine

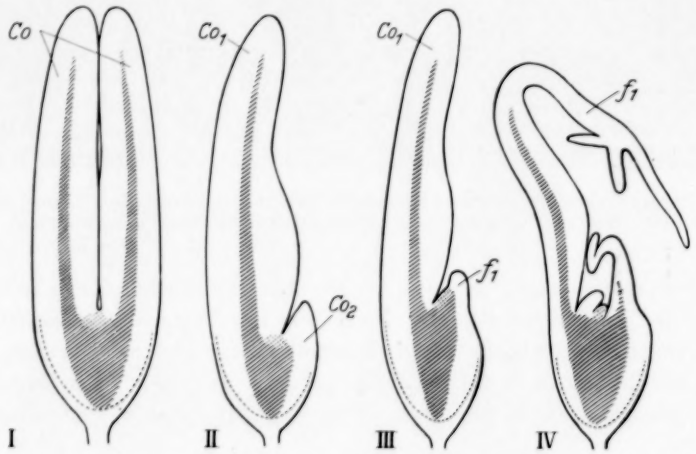


Abb. 7. Längsschnitte durch einen normalen (I), einen anisokotylen (II), einen monokotylen (III) und einen akotylen Embryo von *Eranthis hiemalis*

Reihe zunehmender Reduktion des einen Kotyledos anhand von Embryo-Längsschnitten dargestellt.

Chorikotyle Formen, wie Abb. 2 I—III und Abb. 5 sie zeigen, haben wir bisher, ebenso wie die echten Einkeimblättrigen, ausschließlich nach Phenylborsäure-Anwendung registriert.

Neben den eindeutig chori- und anisokotylen Exemplaren wurde bei allen Versuchen auch noch eine Reihe von bezüglich der morphologischen

Deutung problematischen intermediären Mißbildungen gefunden, darunter solche mit nur einseitiger Chorikotylie oder Anisokotyle mit verwachsenen Kotyledonen, die sich dennoch von den nach 2,4-D-Einwirkung auftretenden Anisokotylen deutlich unterscheiden.

Wichtig ist die Feststellung, daß auch bei weitgehend reduziertem zweiten Kotyledo die für die eigentliche Monokotylie charakteristische Verfrühung der Plumula-Entwicklung unterbleibt. Dies sei anhand der Abb. 5I—III, 6I, 7II und 8II nochmals eigens hervorgehoben. Beim anisokotylen Embryo liegt die Sproßspitze, ebenso wie bei den normalen Pflanzen, als Gruppe besonders großkerniger Zellen an der Basis zwischen den beiden Kotyledonen (Co_1 und Co_2), während sie sich beim monokotylen Keim infolge des einseitigen Kotyledoablastes zu einer nach der Seite des fehlenden Keimblattes hin freien Plumula entwickelt. Das erste Laubblatt (f_1) übernimmt auch insofern die Rolle des ablastierten Keimblattes,

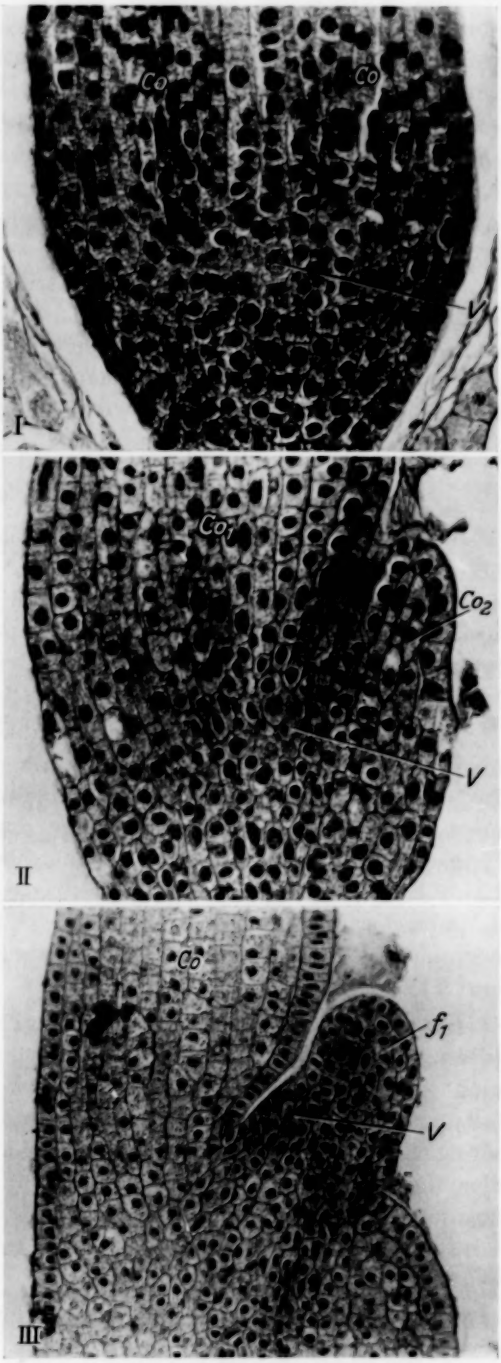


Abb. 8. Vergrößerte Ausschnitte von den Abb. 7I—III. I normaler, II anisokotyler und III monokotyler Embryo von *Eranthis hiemalis*

als sein Leitbündel anschließend an die Leitelemente des normalerweise unter dem zweiten Keimblatt liegenden Stelen-Pols der Keimwurzel entwickelt wird (Abb. 7III und 8III).

Wir legen ein besonderes Gewicht auf diese Unterscheidung, weil bei einer oberflächlichen Betrachtung der herauspräparierten monokotylen Keime das frei nach außen sichtbare erste Plumula-Blatt (f_1 in den Abb. 2 und 6—8) als Rudiment des zweiten Kotyledos mißdeutet werden könnte. Wie die Längs- und Querschnitte jedoch zeigen, ist eine einwandfreie Unterscheidung auch der extrem anisokotylen von den monokotylen Formen auf Grund des Entwicklungszustandes der Sproßspitze möglich. Zweifellos handelt es sich bei der Frühentwicklung der Plumularblättchen im Zusammenhang mit der Totalhemmung des einen Kotyledos um eine Korrelationserscheinung.

3. Akotyle Keimpflanzen

Wie aus den Tabellen 1 und 2 ersichtlich ist, führt die Anwendung höherer Phenylborsäure-Konzentrationen (1200—2500 ppm) bei etwa einem Viertel der behandelten Keime zu einer Totalhemmung beider Keimblätter, wobei es, übereinstimmend mit dem Verhalten der monokotylen Anomalien, zu einer sehr vorzeitigen Entwicklung der Plumularblättchen kommt (Abb. 2X—XII).

Das erste Laubblatt (f_1) ist erkennbar an der mehrfach fingerförmig geteilten Spreite und der charakteristischen Abknickung im Stiel. Im Querschnitt (Abb. 6III) unterscheidet es sich von den Kotyledonen normaler oder monokotyler Sämlinge durch die für die Laubblätter typischen 3 Leitbündel. Man erkennt auch, daß bereits 2—3 weitere Laubblätter angelegt sind. Ein niedriger, die kräftige Plumula rings umgebender wulstartiger Vorsprung zeigt den Bereich an, wo sich normalerweise die Kotyledonen entwickelt hätten (Abb. 2X—XII und 7IV).

Ob es auch zum Auskeimen und Ergrünen dieser extrem anomalen Pflänzchen kommt, konnte bei den Versuchen des vergangenen Jahres nicht ermittelt werden. Da die akotylen Keime zum normalen Entfaltungstermin der Kotyledonen noch in den Samen steckten, sind sie sämtlich erst beim Präparieren zum Vorschein gekommen. Bei den diesjährigen Versuchen ist geplant, einen Teil der Probanden über die normale Keimungszeit hinaus und evtl. bis zum folgenden Jahr in den Töpfen zu belassen. Auf diese Weise soll festgestellt werden, welche von folgenden drei Möglichkeiten zutrifft:

1. Die Plumularblätter der akotylen Keime ergrünen im gleichen Jahr wie die Kotyledonen der normalen Pflanzen, nur etwas später.

2. Die vorzeitig angelegten Plumula-Blättchen persistieren in den Samen bis zum folgenden Jahr und ergrünen dann gleichzeitig mit den ersten Laubblättchen der gleich alten normalen Sämlinge.

3. Die akotylen Keime sind in ihrer Vitalität derart geschwächt, daß es überhaupt nicht zum Ergrünen der Laubblattanlagen kommt.

D. Besprechung der Ergebnisse

1. Vergleich der experimentell induzierten Monokotylie mit der Monokotylie als Artmerkmal gewisser Dikotylen-Arten

In Abb. 9II—V sind die Umrisse von Längsschnitten durch je einen jüngeren und einen älteren Embryo normalerweise monokotyler Dikotylen-Arten wiedergegeben, um einen Vergleich mit den geschilderten

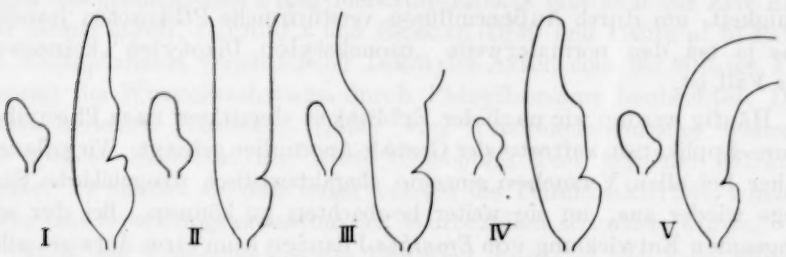


Abb. 9. Umrisse der Längsschnitte je eines jüngeren und eines älteren Embryos von *Eranthis hiemalis* (nach Phenylborsäure-Behandlung) (I); *Anemone apennina* (II); *Ranunculus Ficaria* (III); *Corydalis cava* (IV); *Claytonia virginica* (V)

Phenylborsäure-Anomalien (Abb. 9I) durchführen zu können. Übereinstimmend ist die Anlegungsweise des einzigen Kotyledos als einseitige, schräg nach außen weisende Hervorwölbung am birnförmigen Embryo. Bei den im ersten Teil dieser Folge (Haccius u. Trompeter) beschriebenen synkotylen 2,4-D-Anomalien wurden derartige Längsschnittbilder junger Keime trotz sehr reichlichen Untersuchungsmaterials in keinem Fall beobachtet.

Auch die weitere Entwicklung des einzigen Kotyledos der Phenylborsäure-Anomalien gleicht weitgehend derjenigen der untersuchten monokotylen Dikotylen-Arten. So findet man in allen Fällen die sehr charakteristische ventrale Verdickung des sich dadurch abrundenden Kotyledonarstiels.

Verschieden ist die Art der Umscheidung der Plumula durch Auswüchse der Kotyledonarscheide, die mehr oder weniger ausgeprägt bei den dargestellten monokotylen Dikotylen, nicht aber bei den typischen Phenylborsäure-Anomalien ausgebildet ist. Hiermit steht vermutlich auch der bei den experimentell monokotylen *Eranthis*-Sämlingen weiter fortgeschrittene Zustand der ersten Plumula-Organe in Zusammenhang.

Wie wir im Vorangegangenen zeigen konnten, handelt es sich bei der phenylborsäure-induzierten Monokotylie bei *Eranthis* um eine durch Totalhemmung des einen Keimblatts zustande kommende anomale Bildung. Das beweisen vor allem die zahlreichen Übergangsstadien zunehmender Reduktion des einen Kotyledos.

Die weitgehende, wenn auch nicht vollkommene entwicklungsgeschichtliche und anatomische Übereinstimmung dieser experimentell induzierten Morphosen mit den artspezifisch monokotylen Sämlingen gewisser Dikotylen-Arten kann daher als eine weitere Stütze für unsere aus anderen Gründen vertretene Auffassung gelten, daß die von uns bisher untersuchten „monokotylen Dikotylen" als „extrem anisokotyle" Formen zu verstehen sind. Dazu sei jedoch nochmal daran erinnert, daß es sich bei den Phenylborsäure-Morphosen, trotz ihrer guten Lebensfähigkeit, um durch Außeneinflüsse verstümmelte Pflänzchen handelt, was ja bei den normalerweise „monokotylen Dikotylen" keineswegs der Fall ist.

Häufig werden wir nach der Erblichkeit derartiger nach Phenylborsäure-Applikation auftretender Gestalt-Anomalien gefragt. Wir pflanzen daher bei allen Versuchen einzelne charakteristisch umgebildete Sämlinge wieder aus, um sie weiter beobachten zu können. Bei der sehr langsamen Entwicklung von *Eranthis*-Pflanzen kann eine Antwort allerdings erst in einigen Jahren erwartet werden. Wir zweifeln jedoch kaum daran, daß sie negativ ausfallen wird. Unseres Erachtens handelt es sich bei den geschilderten Morphosen um rein somatische Einflüsse, die lediglich zur Zeit der Applikation gerade in Anlegung befindliche Organe treffen können.

2. Über die Wirkungsweise der Phenylborsäure

Auf Grund unserer Untersuchungen nehmen wir an, daß die teratogene Wirksamkeit der Phenylborsäure darauf beruht, daß sie pflanzliche Organanlagen zu einem sehr frühen Zeitpunkt ihrer Entwicklung (Determinierungsstadium ?) selektiv zu hemmen vermag. Der Ausfall kann dann noch von den weiterwachsenden übrigen Teilen des Keimlings durch Proportionsverschiebungen ausgeglichen werden.

Nach dieser Auffassung wäre der Phenylborsäure keine eigentliche morphoregulatorische, sondern lediglich eine auf bestimmte Entwicklungsprozesse begrenzte Hemmwirkung zuzuschreiben, auf welche die Pflanze dann ihrerseits gestaltregulierend antwortet.

Das zahlenmäßige Überwiegen der monokotylen Formen unter den phenylborsäure-beeinflußten *Eranthis*-Keimen läßt den mit aller Vorsicht zu ziehenden Schluß zu, daß die hemmungssensiblen Differenzierungsvorgänge nicht für beide Kotyledonen gleichzeitig ablaufen, so daß

das eine Keimblatt noch total unterdrückt werden kann, während sich das andere ungehemmt weiterentwickelt. Entsprechend würde es sich bei den anisokotylen und chorikotylen Morphosen um zur Zeit der Behandlung schon etwas weiter fortgeschrittene Embryonen gehandelt haben, bei denen beide Keimblätter bereits über das mit Totalhemmung reagierende Stadium hinaus waren[1].

Daß die Anlegung der beiden Keimblätter dikotyler Keime nicht genau gleichzeitig erfolgt, ist gelegentlich aus theoretischen Gründen gefordert worden, wenn es auch meines Wissens, von ganz wenigen Ausnahmen abgesehen, durch entwicklungsgeschichtliche oder histologisch-anatomische Methoden nicht zu beweisen ist.

Über eventuelle biochemische oder physikalisch-chemische Grundlagen des geschilderten Phenylborsäure-Effekts läßt sich zur Zeit noch gar nichts sagen. Caujolle und Bergal (1949 und 1950a u. b) haben an Keimpflanzen verschiedener Dikotylen-Arten eine bis 90%ige Förderung des Wurzelwachstums durch Phenylborsäure beobachtet. Dasselbe berichtet Torssell (1956) von Weizenkeimwurzeln, während die gleiche Substanz im *Avena*-Koleoptilen-Test keinerlei Wirkung zeigte. Er nimmt an, daß dabei weniger die Teilungsaktivität, sondern mehr das Streckungswachstum der Wurzelzellen stimuliert wurde.

Nach den Vorstellungen von Torssell würde es sich beim Phenylborsäure-Effekt um eine durch die (die Intrabilität erhöhende) lipophile Phenylgruppe gesteigerte Borsäure-Wirkung handeln. Wir haben in zahlreichen Versuchen Borsäure (allein oder in Kombination mit verschiedenen Wirkstoffen) auf *Eranthis*-Embryonen einwirken lassen, aber niemals den oben geschilderten vergleichbare Anomalien erhalten. Borsäure hat sich stets als unspezifisch toxisch oder in niedrigeren Konzentrationen als unwirksam erwiesen.

Zur Zeit werten wir Versuche mit verschiedenen der Phenylborsäure verwandten Verbindungen (Tolylborsäuren, Diborsäurebenzolen usw.) aus. Bestimmte Gesetzmäßigkeiten lassen sich bis jetzt noch nicht feststellen. Die Experimente werden im Mai 1960 mit frischen *Eranthis*-Samen wiederholt und fortgesetzt.

Da es uns inzwischen gelungen ist, mit Phenylborsäure an anderen Pflanzen, sowohl im vegetativen als auch im reproduktiven Bereich, sehr charakteristische Ausfallserscheinungen zu erzielen (Haccius u. Massfeller 1959), hoffen wir, daß es mit diesen Objekten leichter als mit *Eranthis*-Keimen möglich sein wird, das phenylborsäure-sensible

[1] Wie wir im ersten Teil dieser Folge (Haccius u. Trompeter) näher ausgeführt haben, enthalten die bei unseren Versuchen verwendeten gleichzeitig und vom gleichen Standort gesammelten *Eranthis*-Samen annähernd, aber nicht vollkommen gleich weit entwickelte Embryonen.

Stadium der Organanlegung näher zu definieren und eventuell auch etwas über den Wirkungsmechanismus ausmachen zu können.

Zusammenfassung

Nach viertägiger Behandlung noch in den Samen befindlicher, undifferenzierter Embryonen von *Eranthis hiemalis* mit Phenylborsäure (600—1200 ppm) treten bei 70—80% der Sämlinge charakteristische Anomalien auf: Chorikotylie, Anisokotylie aller Grade, Monokotylie und Akotylie.

Entwicklungsgeschichte und Anatomie der monokotylen Morphosen zeigen eindeutig, daß am Embryo-Apex nur einer der beiden Kotyledonarpole zu einem einfachen Primordium auswächst, während der gegenüberliegende Bereich anlagefrei bleibt. Keinerlei Anzeichen weisen auf eine Kotyledo-Verwachsung hin.

Die anisokotylen Formen bilden eine lückenlose Übergangsreihe von chorikotylen Exemplaren mit fast gleich starken Keimblättern bis zu extremer Rudimentierung des einen Kotyledos. Sie gleichen insofern normalen *Eranthis*-Sämlingen, als die Sproßspitze beim Auskeimen lediglich aus einer Gruppe weniger großkerniger Zellen besteht, während bei den mono- und akotylen Exemplaren, korrelativ zum Kotyledo-Verlust, eine verfrühte Plumula ausgebildet wird.

Da sich der geschilderte Effekt als selektive Hemmung eines engbegrenzten und sicher sehr frühen Entwicklungsstadiums der Kotyledo-Anlagen erklären läßt, kann aus dem hohen Prozentsatz an monokotylen Anomalien geschlossen werden, daß diese besonders hemmungssensiblen Entwicklungsprozesse nicht für beide Kotyledonen gleichzeitig ablaufen.

Folgerungen für das Verständnis der Einkeimblättrigkeit als Art-Merkmal gewisser Dikotylen-Arten werden diskutiert.

Diese Untersuchungen wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft in dankenswerter Weise durch wertvolle Sachbeihilfen unterstützt.

Literatur

CAUJOLLE, F., et G. BERGAL: Influence de l'acide phénylborique sur la germination de quelques Apétales. C. R. Acad. Sci. (Paris) **228**, 1249 (1949). — Influence de l'acide phénylborique sur la croissance des racines isolées de *Raphanus sativus* en milieu liquide sterile. C. R. Acad. Sci. (Paris) **230**, 1101 (1950a). — Influence des acides boriques et phenylboriques sur la germination et le développement des plantules de quelques dicotylédones. C. R. Acad. Sci. (Paris) **231**, 1550 (1950b). — HACCIUS, B.: Histogenetische Untersuchungen an Wurzelhaube und Kotyledonarscheide geophiler Keimpflanzen (*Podophyllum* und *Eranthis*). Planta (Berl.) **41**, 439 (1953). — Versuche zur somatischen Beeinflussung der Organbildung pflanzlicher Embryonen. Experientia (Basel) **11**, 149 (1955). — Über die Regenerationsfähigkeit junger Embryonen von *Eranthis hiemalis* nach Colchicin-Behandlung.

Naturwiss. **44**, 18 (1957a). — Regenerationserscheinungen an pflanzlichen Embryonen nach Behandlung mit antimitotisch wirksamen Substanzen. Beitr. Biol. Pflanz. **34**, 3 (1957b). — Morphoregulatorische Beeinflussung pflanzlicher Embryonen durch Phenylborsäure. Naturwiss. **46**, 153 (1959a). — Über die unterschiedliche Antimitotica-Empfindlichkeit der Zellen noch undifferenzierter Embryonen von *Eranthis hiemalis*. Z. Naturforsch. **14b**, 206 (1959b). — Haccius, B., u. D. Massfeller: Durch Phenylborsäure induzierte Reduktion der Petalen von *Cucumis sativus*. Naturwiss. **46**, 585 (1959). — Haccius, B., u. G. Trompeter: Experimentell induzierte Einkeimblättrigkeit bei *Eranthis hiemalis* I. Synkotylie durch 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure. Planta (Berl.) **54**, 466 (1960). — Johansen, D. A.: Plant microtechnique. New York u. London 1940. — Torssell, K.: Chemistry of arylboric acids. VI. Effects of arylboric acids on wheat roots and the role of boron in plants. Physiol. Plantarum (Copenh.) **9**, 652 (1956).

Prof. Dr. B. Haccius
Botanisches Institut der Universität Mainz

Planta 54, 498—504 (1960)

GIBBERELLIN-LIKE SUBSTANCES IN PHOTOINDUCED AND VEGETATIVE *HYOSCYAMUS* PLANTS

By

ANTON LANG *

With 1 Figure in the Text

(Received December 21, 1959)

The gibberellins are a group of substances which cause characteristic growth responses in plants. They were discovered as metabolic products of a mold, namely certain strains of *Fusarium moniliforme* (see reviews by STOWE and YAMAKI 1957, 1959, and the "Source-book of gibberellin", edited by F. H. STODOLA 1958). To date, four different, although chemically closely related gibberellins have been isolated from *Fusarium* strains; they have been called gibberellins A_1 through A_4, gibberellin A_3 also being known as gibberellic acid. Recently, at least one of these substances, gibberellin A_1, has been shown to occur in higher plants, namely in seeds of *Phaseolus multiflorus* (MACMILLAN and SUTER 1958) and *Ph. vulgaris* (WEST, in press) and in shoots of *Citrus* (KAWARADA and SUMIKI 1959). A new gibberellin, A_5, has likewise been isolated from seeds of *Phaseolus multiflorus* (MACMILLAN et al. 1959). Furthermore, gibberellin-like materials, *i.e.* substances possessing the typical physiological activities of the known gibberellins but not yet identified as to their chemical nature, have been found in numerous plants (see, *e.g.*, PHINNEY *et al.* 1957, LONA 1957, RADLEY 1958, MCCOMB and CARR 1958). Thus, gibberellins and related substances are undoubtedly widespread, native growth regulators of higher plants.

One of the effects of gibberellin application in higher plants is the induction of stem elongation and flower formation which has been observed in many rosette species (review: LANG 1959). Treatment of rosette plants with gibberellin-like substances from other higher plants causes similar effects (LANG *et al.* 1957, BÜNSOW *et al.* 1958). These results suggest that gibberellins or related substances participate in the endogenous regulation

* Present address: Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena. — This work is part of a project on the morphogenetic role of the gibberellins, supported by the National Science Foundation, Washington, D.C., and Merck and Company, Rahway, New Jersey. The experiments were started at the Department of Botany, University of California, Los Angeles, and continued at the Max-Planck-Institut für Biologie, Abteilung MELCHERS, Tübingen, Germany, where the author spent part of his sabbatical leave from the University of California, supported by a senior postdoctoral fellowship from the National Science Foundation. The author wishes to express his sincere appreciation to Prof. G. MELCHERS for his generous hospitality, and to Miss ILSE MÖLLER for technical assistance.

of stem growth and flower formation in plants and act as limiting factors for these processes in rosette species.

If this assumption is valid one may expect that gibberellins or gibberellin-like substances occur in rosette plants and that they may undergo certain changes in amounts, and possibly other alterations when the plant switches from vegetative growth to stem elongation and flower formation.

The present note is to report preliminary results concerning this matter. The experiments were performed with plants of an annual strain of the black henbane (*Hyoscyamus niger* L. f. *annuus*). This strain is a long-day plant which stays vegetative when kept on photoperiods of less than 10 hrs. (at temperatures of 22° or above; see LANG and MELCHERS 1943). The plants were either grown on short days or were subjected to long days until the appearance of microscopic flower primordia. They were then extracted and the extracts assayed for the presence of gibberellin-like activity. The assays were carried out with the aid of three dwarf mutants of *Zea mays* L., those controlled by the genes *d-1*, *d-3* and *d-5* (PHINNEY 1956). These mutants are highly responsive to gibberellins and gibberellin-like substances, the responses being extremely specific. Furthermore, while the gibberellins A_1, A_2 and A_3 and numerous gibberellin-like substances from various plants are highly active on all three mutants, another gibberellin-like substance, BF-II (bean factor II, WEST and PHINNEY 1959), probably identical with gibberellin A_5 (MACMILLAN *et al.* 1959), is highly active on mutants *d-3* and *d-5* but is only 5% as active as gibberellin A_3 on mutant *d-1*. Thus, the simultaneous use of the three mutants permits not only the detection of quantitative differences in gibberellin activity but also the recognition of the presence of *qualitatively* different gibberellin-like materials.

Methods

a) Plant material.—The *Hyoscyamus* plants were raised under short-day conditions (8 or 9 hrs. of light daily) in the greenhouse. Prior to use, they were moved to artificial-light rooms at approximately 23° C, subjected either to 8 hr.- or to 16 hr.-days, and harvested when the long-day individuals were showing the earliest stage of stem elongation and had started forming the first microscopic flower primordia. The material was divided into older, expanded leaves and younger leaves plus shoot tips (in one experiment, the shoot tips with the youngest leaves were kept as a separate, third fraction). Each sample was rapidly frozen with dry ice, crushed to a coarse powder and if necessary stored in stoppered glass jars at temperatures of —15° to —20° C.

b) Extraction.—The extraction method used was that of WEST and PHINNEY (1959) with some minor modifications. The plant material was covered with an excess of 70% acetone and allowed to stand for periods between 16 hrs. (overnight) to 24 hrs.; the extraction was repeated two times, the extracts were combined and the acetone was removed under partial vacuum. The remaining aqueous extract was shaken 1—2 hrs. with activated charcoal (30 g per liter of liquid); this charcoal

adsorption was carried out a total of five times. The combined charcoal was washed with a fivefold amount of water and eluted five times with 75% acetone, each time using a fivefold amount of acetone (as volume per dry weight of charcoal) and shaking for 1—2 hrs. The acetone was removed as before, the remaining aqueous eluate was adjusted to p_H 8 (with KH_2PO_4 and KOH, to approximately 0.1-molar) and shaken three times with equal volumes of ethyl acetate. This ethyl acetate was discarded, the p_H of the aqueous phase brought to 3 (with half-concentrated HCl), and the ethyl acetate treatment repeated as before, this time, however, preserving the combined organic phase. In both ethyl acetate extractions, the p_H of the aqueous phase was checked after each shaking and re-adjusted if necessary. The final ethyl acetate phase was dried by freezing-out and filtering-off the remaining water and was either concentrated (under partial vacuum) to a small volume (not more than 5 ml), or evaporated to dryness (likewise under vacuum) and the residue re-dissolved in a similar volume of a mixture of equal parts of acetone and ethyl acetate.

When not under handling, all preparations were kept in a coldroom at + 2—4°C. The procedures requiring relatively long periods of time, *i.e.* the initial acetone extraction, the acetone and ethyl acetate evaporations, and the charcoal adsorption and elution, were likewise performed in the cold (cold-room or ice-bath). Evaporations were carried out under a nitrogen atmosphere. The solvents used were all of reagent or chromatography grade. Since our main objective was to secure measurable activities, it was not systematically determined whether all described precautions were essential or beneficial. However, in another experiment in which all steps of the extraction process were performed at room temperature and in which the charcoal adsorption step was omitted, the activity levels obtained were lower than those obtained in the more elaborate experiments and in fact too low for any reliable conclusions.

c) Chromatography.—The final, concentrated extract was chromatographed (descending method) on Whatman No. 1 or Schleicher and Schüll No. 2043-b paper, using the solvent of MITCHELL (1958) [n-butanol/tertiary amyl alcohol/acetone/ammonia (0.910)/water, 5/5/5/2/3 by volume]. The chromatograms were allowed to run for 30 cm (at 25° C), dried, and cut into 11 equal strips corresponding to the R_f regions of —0.05 to + 0.05, + 0.05 to 0.15, 0.15 to 0.25, etc. to + 0.95—1.05, *i.e.* to average R_f's of 0, 0.1, 0.2, *etc.* to 1.0. Each strip was eluted with acetone (one or two times, each time approximately 70 ml per strip of 55 × 3 cm; on shaker at + 2° C). The acetone was evaporated (10—15° C, under a fan); the residue was taken up with water containing 0.05% of a wetting agent (Tween-80 = polyoxyethylene sorbitan monolaurate), and applied to the test plants.

d) Bio-assay.—The maize mutants were sown in soil in the greenhouse or in artificial-light rooms, in the latter case with 16 hrs. of light daily and at a temperature of 30° C. The extracts were applied when the first leaf of the seedling was unfolding, presenting a funnel-like appearance. The lengths of the first and second leaf sheaths were measured after growth had been completed and were compared to those of untreated controls and of seedlings treated with 0.01 or 0.1 μg of gibberellin A_3. Growth values exceeding the growth of the largest control plant by 25% or more can be considered as evidence for significant activity in the bio-assay (see PHINNEY and WEST 1959).

e) Quantitative aspects of the experiments.—The data in this paper represent the results of three different experiments. In one of them, the bio-assays were done on all three dwarf mutants, in the other two only on *d-1* and *d-3*. *All experiments were standardized inasfar as the amount of extract applied to each test plant always corresponded to 50 g fresh weight of the original plant material.* The absolute amounts

of plant material available in the different experiments and different plant fractions varied considerably (between 150 and 1000 g), and the number of test plants that could be treated in the bio-assays varied accordingly (between one and five).

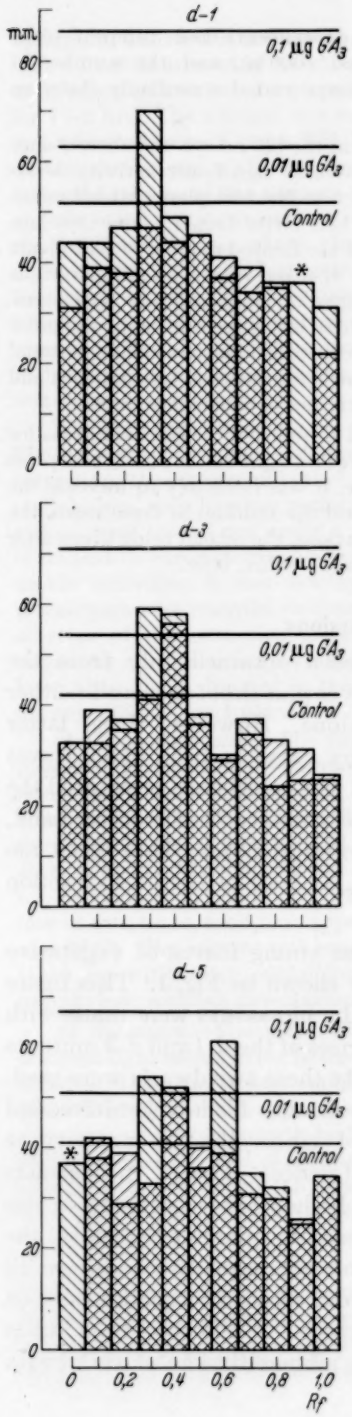
The 50 g-fresh-weight equivalent figure used in the bio-assays was chosen since smaller equivalents (25 g) failed to give consistently significant activity levels while larger ones (100 g) sometimes caused injury to the test plants which might obscure a growth-promoting effect. In view of this latter fact, *i. e.* the injurious effect of larger amounts of extract, and in view of the limited number of test plants that could be used in the bio-assays, it is evident that our results do not permit us to establish absolute activity levels with any degree of precision. The only statement that may be made in this respect is that these levels seem to be in the order of 0.1 to 1 μg gibberellin A_3 equivalents per 1 kg fresh weight of active plant material (see below). The results do, however, permit the recognition of quantitative and qualitative differences between the gibberellin activities of different extracts.

As far as possible, the amount of water used to prepare the final solutions for the assay was kept at 0.2 ml per 100 g original fresh weight so that each test plant received 0.1 ml of solution. Sometimes, however, it was necessary to increase the amount of water in order to dissolve or re-suspend the residue; in these cases, the application had sometimes to be made in two portions, the second being given after the first had been absorbed by the plant, in general 5—6 hrs. later.

Results and Conclusions

So far, gibberellin-like activity has been obtained only from the younger leaves of the plants (or younger leaves plus shoot tips) and neither from older leaves nor from shoot tips alone. However, these latter negative findings are not definitive. Many extracts from older leaves were highly injurious to the test plants and this could have prevented the manifestation of activity, even if such were present. On the other hand, the amounts of shoot tips available for extraction may have been too small to attain detectable activity levels, at least with the extraction and assay methods used.

The patterns of activity obtained from young leaves of vegetative and photoinduced *Hyoscyamus* plants are shown in Fig. 1. This figure is derived from the experiment in which the bio-assays were made with the *d-1*, *d-3* and the *d-5* mutant. The responses of the *d-1* and *d-3* mutants in the additional experiments, in which only these two dwarfs were used, were quite similar. Chromatograms of extracts from vegetative and photoinduced plants exhibited a zone of gibberellin-like activity at R_f 0.3—0.4. However, there were two differences. Firstly, the extracts from induced material gave a consistently higher level of activity in this chromatogram zone than those from vegetative plants. Secondly, the activity of the extracts from induced plants was equally evident on all three mutants but that of the extracts from vegetative plants only on the *d-3* and the *d-5* and not on the *d-1* mutant. In addition, the extract from induced plants apparently contains a gibberellin-like material with



an R_f value of 0.6 and active only on the *d-5* mutant. The extract from vegetative plants did not exhibit any measurable activity in this region of the chromatograms.

The difference in the activity pattern at the lower R_f value may be due either to the presence of large amounts of a BF-II-like gibberellin in the induced plants, resulting in some activity on the *d-1* mutant, or to the appearance of an entirely new gibberellin-like substance, active on all three mutants, in these plants. Extracts from induced plants exhibited a somewhat higher level of activity in the $R_f = 0.3$—0.4 region than extracts from vegetative material. However, this increase does not seem to equal the ratio in the activities of gibberellin A_3 and BF-II on the *d-1* mutant which is approximately 20:1. Therefore, the difference in activity between extracts from vegetative and induced material which is evident in this chromatogram region is probably at least partially due to the appearance of a new gibberellin-like material, characterized by a different range of action, in the induced plants. However, further more quantitative studies are needed to resolve this problem.

The activity found in chromatograms of "induced" extracts at R_f 0.6 may be due either to the appearance of a new type of gibberellin-like substance, characterized by activity only on the

Fig. 1. Histogram of extracts from young leaves of vegetative (▨) and photoinduced (▩) plants of annual *Hyoscyamus niger*, tested on the *d-1*, *d-3* and *d-5* mutants of *Zea mays*. Abscissa, R_f values; ordinate, sum of lengths of first and second leaf sheaths of the test seedlings. The horizontal lines indicate the value of the tallest untreated control seedling and the responses to 0.01 and 0.1 µg gibberellin A_3. * test plants killed or severely injured

d-5 dwarfs, in the induced plants, or to a substantial increase in the level of such a substance.

The results thus indicate that native, gibberellin-like substances are present in annual *Hyoscyamus niger* plants and that there are quantitative and/or qualitative differences in the gibberellin complement of vegetative and photoinduced individuals[1]. The results do not yet permit any statement as to the precise relations between these differences and the developmental condition of the plant, *i.e.* whether the gibberellin changes are cause, consequence, or an attendant symptom of flower initiation. However, an observation made in one of our experiments is of interest in this connection. In this experiment, not only vegetative plants and plants at the earliest morphological stages of flower formation were used, but also plants which were farther advanced in flower development, possessing small flower buds and stems 5—10 cm long. The gibberellin activity found in these plants was considerably lower than in the less advanced material and its pattern, as far as it could be ascertained, was more similar to that of vegetative plants than to that of plants in the earlier stage of flower formation.

HARADA and NITSCH (1959) have recently reported data likewise indicating differences in the gibberellin composition of vegetative plants and plants subjected to flower-inducing treatments. Since they used other plant species, a different extraction procedure, and a different, single assay method which would not permit them to detect differences in the activity ranges of their substances, their results cannot be directly compared with ours. They do, however, fully support the idea that transition to flower formation is accompanied by significant changes in the content of the plant in gibberellin-like growth substances.

The chemical nature of the substances demonstrated in our experiments as well as in those of HARADA and NITSCH (1959) is entirely unknown. In the solvent system used in our work gibberellin A_3 moved with R_f values between 4.5 and over 5 (a range of variation not uncommon in the chromatography of weak acid substances in solvents containing ammonia), always somewhat ahead of but fairly close to the slower-moving region of activity in the extracts. Such a difference in the R_f values may readily be due to the presence of extraneous material in the extracts, and as the activity pattern of this region in the extracts from induced plants is the same as that of gibberellin A_3, it is conceivable that the activity is due to this particular gibberellin. However, it is quite obviously impossible to make any positive statement solely on the basis of the behavior in a single chromatographic system. The activity in this region of extracts from vegetative plants and the activity at R_f 0.6 found in induced plants cannot be attributed to gibberellins A_1, A_2 or A_3 (the activity pattern of gibberellin A_4 on the *d-1*, *d-3* and *d-5* mutants is not known).

[1] There is a possibility that the observed differences are only part of the total picture. In one experiment the plant material, after exhaustive acetone extraction, was re-extracted with methanol, and additional, appreciable activity was recovered in the case of the induced, but not of the vegetative material.

Zusammenfassung

In Pflanzen einer einjährigen Rasse von *Hyoscyamus niger* wurde das Vorhandensein gibberellinartiger Verbindungen nachgewiesen. In der Gibberellinzusammensetzung vegetativer und photoperiodisch induzierter Exemplare bestehen gewisse quantitative und/oder qualitative Unterschiede.

Literature Cited

BÜNSOW, R., J. PENNER u. R. HARDER: Blütenbildung bei *Bryophyllum* durch Extrakt aus Bohnensamen. Naturwiss. **45**, 46—47 (1958). — HARADA, H., and J. P. NITSCH: Changes in endogenous growth substances during flower development. Plant Physiol. **34**, 409—415 (1959). — KAWARADA, A., and Y. SUMIKI: The occurrence of gibberellin A_1 in water sprouts of *Citrus*. Bull. agric. chem. Soc. Japan **23**, 343—344 (1959). — LANG, A.: The influence of gibberellin and auxin on photoperiodic induction. In: Photoperiodism and related phenomena in plants and animals (R. B. WITHROW, ed.). Amer. Assoc. Adv. Sci.; Publ. No 55, pp. 329—350. Washington, D.C. 1959. — LANG, A., u. G. MELCHERS: Die photoperiodische Reaktion von *Hyoscyamus niger*. Planta (Berl.) **33**, 653—702 (1943). — LANG, A., J. A. SANDOVAL and A. BEDRI: Induction of bolting and flowering in *Hyoscyamus* and *Samolus* by a gibberellin-like material from a seed plant. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 960—964 (1957). — LONA, F.: Azione gibberellinosimile di estratti ottenuti da giovani strutture fiorale di *Brassica napus* L. var. *oleifera*. (Nota prelim.) Ateneo parmense **28**, 111—115 (1957). — MCCOMB, A. J., and D. J. CARR: Evidence from a dwarf pea bioassay for naturally occurring gibberellins in the growing plant. Nature (Lond.) **181**, 1548—1549 (1958). — MACMILLAN, J., J. C. SEATON and P. J. SUTER: A new plant growth-promoting acid—gibberellin A_5 from the seed of *Phaseolus multiflorus*. Proc. chem. Soc. (Lond.) **1959**, 325—326. — MACMILLAN, J., and J. P. SUTER: The occurrence of gibberellin A_1 in higher plants: isolation from seed of runner bean *(Phaseolus multiflorus)*. Naturwiss. **45**, 46 (1958). — MITCHELL, L. C.: Gibberellic acid and its potassium salt: a short study by paper chromatography. J. Ass. offic. agric. Chem. **41**, 182—185 (1958). — PHINNEY, B. O.: Growth response of single-gene dwarf mutants in maize to gibberellic acid. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **42**, 185—189 (1956). — PHINNEY, B. O., C. A. WEST, M. RITZEL and P. M. NEELY: Evidence for „gibberellin-like" substances from flowering plants. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **43**, 398—404 (1957). — RADLEY, M.: The distribution of substances similar to gibberellic acid in higher plants. Ann. Bot., N. S. **22**, 297—307 (1958). — STODOLA, F. H. (ed.).: Source book on gibberellin 1828—1957. U.S. Dept. of Agric. 1958. — STOWE, B. B., and T. YAMAKI: The history and physiological action of the gibberellins. Ann. Rev. Plant. Physiol. **8**, 181—216 (1957). — Gibberellins: stimulants of plant growth. Science **129**, 807—816 (1959). — WEST, C. A.: The chemistry of gibberellins from flowering plants. Proc. IVth Internat. Conf. on Plant Growth Regulation (Yonkers, N.Y., Aug. 1959), in press. — WEST, C. A., and B. O. PHINNEY: Gibberellins from flowering plants. I. Isolation and properties of a gibberellin from *Phaseolus vulgaris* L. J. Amer. chem. Soc. **81**, 2424—2427 (1959).

A. LANG, Division of Biology, California Institute of Technology, Pasadena/Calif., USA

Planta 54, 505—529 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Kiel

WEITERE UNTERSUCHUNGEN ZUR WÄRMEAKTIVIERUNG DER SPORANGIOSPOREN VON *PHYCOMYCES BLAKESLEEANUS*

Von

HANSJÖRG RUDOLPH

Mit 8 Textabbildungen

(Eingegangen am 11. Januar 1960)

Der niedrige Keimprozentsatz der Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* in definiertem Substrat kann durch verschiedene Faktoren gesteigert werden (ROBBINS et al. 1942, SOMMER und HALBSGUTH 1957 und HALBSGUTH und RUDOLPH 1959).

Insbesondere kann die Keimruhe durch eine Wärmevorbehandlung gebrochen werden. Die günstigste Aktivierungstemperatur beträgt nach ROBBINS et al. (1942) und SOMMER und HALBSGUTH (1957) 50° C. HALBSGUTH und RUDOLPH (1959) fanden, daß diese Wärmeaktivierung nur dann wirksam wird, wenn den Sporen während der Wärmevorbehandlung Wasser zur Verfügung steht. Wärmevorbehandelte Sporen zeigen gegenüber unvorbehandelten eine stark gesteigerte Atmung. Wärmevorbehandlung trockener Sporen ruft keine Atmungssteigerung hervor. Der Aktivierungsprozeß ist sauerstoff-unabhängig, der Atmungsanstieg somit nur Folge, nicht ein Glied des Aktivierungsprozesses; jedoch die sich anschließenden Entwicklungsvorgänge, wie z. B. Vakuolen- und Keimschlauchbildung, werden durch Sauerstoffmangel blockiert. Fehlen den Sporen im aktivierten Zustand die Keimungsbedingungen, so geht der Aktivitätszustand wieder verloren. Im Zusammenhang mit dieser Inaktivierung läßt dann auch die Atmungsintensität nach. Der Inaktivierungsprozeß verläuft bei höherer Temperatur (+25° C) relativ rasch, während er durch niedrigere Temperatur (+1° C) außerordentlich stark verlangsamt wird. Durch Trocknen des wärmevorbehandelten Sporenmaterials kann jedoch der Aktivitätszustand bei +25° C stabilisiert werden. Anaerobe Bedingungen fördern die Inaktivierung. Ist der Aktivitätszustand verlorengegangen, so können die Sporen erneut aktiviert und wiederum inaktiviert werden usw., bis schließlich eine irreversible Schädigung des Sporenmaterials eintritt. Damit zeigen die Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* in vielen Fällen gute Übereinstimmung mit den Reaktionen von *Neurospora*-Ascosporen unter ähnlichen Bedingungen.

Die Wirkungsmechanismen, die durch die Wärmevorbehandlung zu so hoher Keimbereitschaft führen, sind nicht bekannt.

Nach ROBBINS u. Mitarb. (1942) sollen aktive Z-Faktoren (ROBBINS, ROBBINS u. Mitarb. 1939—1942) die Ursache der erhöhten Keimbereitschaft der Sporen von *Phycomyces blakesleeanus* im aktivierten Zustand sein. Diese Überlegung beruht im wesentlichen auf der Beobachtung, daß alle fördernden Faktoren, Hitze, organische Säuren usw., in ihrem Wirkungsgrad den Z-Faktoren nicht gleichkommen. Dieser Schluß ist jedoch nicht zwingend, denn die Beobachtung, daß die Z-Faktoren in gleicher Weise Keimung und Myzelwachstum fördern, sagt lediglich, daß mehrere Entwicklungs*abschnitte* gleichermaßen gefördert werden, und schließt die Notwendigkeit nicht ein, daß in jedem Fall aktivierte Z-Faktoren die Ursache für die Brechung der Keimruhe sind.

Die Goddardsche Vorstellung (GODDARD und SMITH 1938 und GODDARD 1939), daß die Carboxylaseaktivierung die wesentlichste Reaktion bei der Wärmeaktivierung ist, wird in der vorliegenden Arbeit ausführlich diskutiert werden.

I. Methodik

Das benutzte Sporenmaterial von *Phycomyces blakesleeanus*[1] stammt von 11 ± 1 Tage alten Dunkelkulturen, die auf Vollkornbrot herangezogen werden. Anzuchtstemperatur: 18 ± 1^0 C. Zu allen Versuchen wird — falls nicht anders angegeben — stets Standard-Nährlösung benutzt: Glucose 15 g[2]; Asparagin 1 g; KH_2PO_4 m/100; $MgSO_4 + 7\ H_2O$ m/1000; $Ca(NO_3)_2 + 4\ H_2O$ m/2000; $FeCl_3 + 6\ H_2O$ m/10000; Vitamin B_1 1/100 γ/ml; Aqua bidest. (Quarz) ad 1000 ml; p_H $4{,}15 \pm 0{,}05$.

Reicht die Pufferkapazität der Nährlösung nicht aus, um bei Zusätzen den p_H-Wert konstant zu halten, so wird durch NaOH bzw. HCl der p_H-Wert so eingestellt, daß das Substrat den gewünschten Wert erhält.

Auf die Sterilisation der Nährlösung konnte verzichtet werden, da sie sofort zum Versuch verwendet wurde. Sterilisation der Brotkulturen: zweimal ↑↓ 110° C im Abstand von 24 Std.

Wärmevorbehandlung: Die Sporensuspension wird in einem Reagensglas 3 min lang in einem Wasserbad von $50 \pm 0{,}1^0$ C geschüttelt. Der Keimprozentsatz wird mit einer Zählkammer nach NEUBAUER bestimmt.

Zu den manometrischen Messungen (Warburg-Modell V 85) vgl. UMBREIT, BURRIS und STAUFFER (1957). O_2-Bestimmung: $Vf = 2{,}2$ ml (1 ml Sporensuspension + 1 ml doppelt konzentrierte Standard-Nährlösung mit eventuellen Zusätzen + 0,2 ml KOH 5%ig). CO_2-Bestimmungen nach der direkten und indirekten Methode von WARBURG. Versuchstemperatur: 19,5° C.

Versuche unter anaeroben Bedingungen werden folgendermaßen durchgeführt. Die Substrate und das Wasser zur Herstellung der Sporensuspension werden in Gaswaschflaschen mit der Wasserstrahlpumpe evakuiert und dann mit einem N_2-Strom begast[3]. Die zum Versuch vorbereiteten Gefäße, die in den seitlichen Ansatzbirnen die so vorbehandelten Substrate enthalten, werden an einem Verteilerrechen befestigt; so können sie gleichzeitig evakuiert und begast werden. Dies geschieht 3mal jeweils im Abstand von etwa 10 min. Die inzwischen wärmeaktivierte Sporensuspension wird dann in das Gefäß pipettiert und das ganze System erneut evakuiert. Entstehen keine Gasblasen mehr, wird N_2 (bzw. ein Gasgemisch aus 95% N_2 und 5% CO_2) durchgeleitet; die einzelnen Gefäße werden dann

[1] Stamm 1^+ aus der Sammlung von HALBSGUTH [vgl. SOMMER und HALBSGUTH (1957), RUDOLPH (1958), HALBSGUTH und RUDOLPH (1959)].

[2] Glucose der Fa. Schuchardt; alle übrigen Substanzen Fa. E. Merck (p. A. bzw. reinst).

[3] Der Stickstoff wird in der Qualität chem. reinst bezogen und nach der Methode von MEYER und RONGE (1939) nochmals gereinigt.

an die ebenfalls durchströmten Manometer gebracht; danach wird das System geschlossen. Nach dem Temperaturausgleich wird die Nährlösung zugekippt und mit den Messungen begonnen. Durch diese Versuchsanordnung kann die Zeit zwischen Aktivierung und Versuchsbeginn relativ kurz gehalten werden. Genaue Zeitangaben sind aus den Legenden der Versuche zu ersehen. Zu Einzelheiten der Methodik vgl. RUDOLPH (1958).

II. Untersuchungen

1. Versuche zum Gaswechsel unvorbehandelter und wärmevorbehandelter Sporen

Werden die Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* nach der Wärmevorbehandlung in Standard-Nährlösung eingeimpft, so läßt sich gegenüber den unvorbehandelten Sporen — unter sonst gleichen Bedingungen — eine verstärkte Atmung nachweisen, noch ehe mikroskopisch sichtbare Veränderungen an den Sporen festzustellen sind. Der Atmungsverlauf ist bei HALBSGUTH und RUDOLPH (1959) für das Intervall 0—6,5 bzw. 7 Std nach Beimpfung dargestellt. Für die Untersuchungen zur Wärmeaktivierung sind besonders die Werte interessant, die direkt im Anschluß an das Überimpfen der Sporen in die Standard-Nährlösung ermittelt werden können. Aus diesem Grunde wird der Atmungsverlauf unvorbehandelter und wärmevorbehandelter Sporen in dieser frühen Entwicklungsphase eingehender untersucht (vgl. Abb. 1).

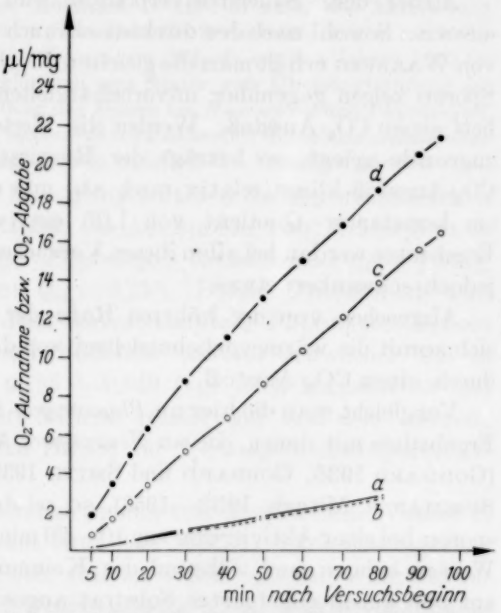


Abb. 1. Gaswechsel unvorbehandelter und wärmevorbehandelter Sporen in Standard-Nährlösung. Versuch K 4/5: pH 4,12; 27,1 mg Sporen/Versuchsgefäß; Zusatz des Substrates 11^{10} Uhr; Versuchsbeginn („0") 11^{12} Uhr. *a* O_2-Aufnahme unvorbehandelter Sporen; *b* CO_2-Abgabe unvorbehandelter Sporen. Versuch K 4/3: pH 4,18; 5,5 mg Sporen/Versuchsgefäß; Ende der Wärmevorbehandlung 10^{00} Uhr; Zukippen des Substrates 10^{08} Uhr; Versuchsbeginn („0") 10^{10} Uhr. *c* O_2-Aufnahme wärmevorbehandelter Sporen; *d* CO_2-Abgabe wärmevorbehandelter Sporen

Unvorbehandelte Sporen atmen im Intervall 0—100 min nach Versuchsbeginn mit einer konstanten Rate. Der Q_{O_2}-Wert[1] beträgt im

[1] $Q_{O_2} = \mu l\ O_2/mg/60$ min.

Mittel 1,92[1] ± 0,23[2] (Wert aus 6 vergleichbaren Versuchen errechnet). Der weitere Kurvenverlauf wird im wesentlichen durch die Anzahl der keimenden Sporen bedingt. Bei einer Keimrate von 4—5% tritt eine langsame Steigerung des Sauerstoffverbrauchs ein; liegt ein geringerer Keimprozentsatz vor, so kann die Atmungsintensität nachlassen (vgl. auch S. 509).

Wärmevorbehandelte Sporen atmen ebenfalls im Intervall 0—100 min nach Versuchsbeginn mit gleichbleibender Intensität.

Aus 16 Versuchen wird Q_{O_2} mit 11,39 ± 1,25 errechnet. Erst im Anschluß an diese Phase steigt die Atmungsintensität an (vgl. HALBSGUTH und RUDOLPH 1959).

Außer dem Sauerstoffverbrauch wird auch die CO_2-Abgabe gemessen. Sowohl nach der direkten als auch nach der indirekten Methode von WARBURG erhält man die gleichen Ergebnisse. Wärmevorbehandelte Sporen zeigen gegenüber unvorbehandelten nach Einbringen ins Keimbett einen CO_2-Ausstoß. Werden die Werte des ersten 5 min-Intervalls zugrunde gelegt, so beträgt der Respiratorische Quotient 2,29. Der CO_2-Ausstoß klingt relativ rasch ab, und nach etwa 65 min stellt sich ein konstanter Quotient von 1,05 ein (vgl. S. 518). Entsprechende Ergebnisse werden bei allen diesen Versuchen gefunden; die Absolutwerte jedoch schwanken etwas.

Abgesehen von der höheren Rate der O_2-Aufnahme unterscheiden sich somit die wärmevorbehandelten von den unvorbehandelten Sporen durch einen CO_2-Ausstoß.

Vergleicht man die hier an *Phycomyces*-Sporangiosporen gewonnenen Ergebnisse mit denen, die an *Neurospora*-Ascosporen erarbeitet wurden (GODDARD 1935, GODDARD und SMITH 1938, GODDARD 1939, SUSSMAN, SUSSMAN u. Mitarb. 1953—1958), so sei daran erinnert, daß die Ascosporen bei einer Aktivierung von 10—20 min bei 58—60° C in destilliertem Wasser keimen und während des Keimungsprozesses nicht unbedingt auf von außen zugeführtes Substrat angewiesen sind.

Daß jedoch auch bei *Neurospora*-Ascosporen destilliertes Wasser nicht das geeignete „Substrat" ist, um Keimungsvorgänge über mehrere Stunden zu verfolgen, können SUSSMAN et al. (1958) zeigen. Glucose als C-Quelle geboten bewirkt, daß 140 min nach Aktivierung gegenüber der Kontrolle eine verstärkte O_2-Aufnahme einsetzt; außerdem bleibt der Respiratorische Quotient konstant (1,0), während in der Kontrolle die Rate der CO_2-Abgabe nach 140 min geringer wird. Damit findet der eigentümliche Verlauf für die Kurve der CO_2-Abgabe bei SUSSMAN et al. (1956, Fig. 5 und 7, S. 132), seine Erklärung.

Für *Phycomyces blakesleeanus* haben SOMMER und HALBSGUTH (1957) nachgewiesen, daß die Sporangiosporen nach einer Wärmevorbehandlung in einer

[1] Der etwas höhere Wert, der sich aus der Arbeit HALBSGUTH und RUDOLPH (1959, Abb. 1, 3 S. 298) errechnen läßt, ist wahrscheinlich auf die dort vorgenommene Sterilisation der Nährlösung zurückzuführen.

[2] Mittlerer Fehler.

4%igen Glucoselösung nur zu 18% keimen. HALBSGUTH und RUDOLPH (1959) konnten an wärmevorbehandelten Sporen[1] — falls diese in destilliertem Wasser suspendiert wurden — eine Inaktivierung mit entsprechend nachlassender Atmung feststellen. (Das Verhalten bei höheren Aktivierungstemperaturen bzw. längeren Aktivierungszeiten wird zur Zeit untersucht.)

Während so die Untersuchungen an den Sporangiosporen in einem Substrat durchgeführt werden, das den Ablauf des gesamten Entwicklungszyklus des Pilzes ermöglicht, treffen die für *Neurospora*-Ascosporen angegebenen Werte in der Regel nur für Sporen zu, die in destilliertem Wasser bzw. Phosphatpuffer suspendiert sind.

Von GODDARD und SMITH (1938) wird für 3 Wochen alte Ascosporen von *Neurospora* nach einer Wärmevorbehandlung von 20 min bei 54—56° C Q_{O_2} mit 10,36—10,86 angegeben (aus dem Zeitraum 1—1,5 Std nach der Aktivierung ermittelt). Etwas niedriger, aber in derselben Größenordnung liegen auch die Werte, die man aus den Arbeiten von SUSSMAN u. Mitarb. aus den Jahren 1953 bis 1958 entnehmen kann. Damit ergibt sich eine relativ gute Übereinstimmung der Q_{O_2}-Werte nach Wärmevorbehandlung der Sporen bei *Neurospora* und *Phycomyces*. Der etwas höhere Q_{O_2}-Wert für *Phycomyces* wird sicherlich durch das vollständige Substrat bedingt, das den Sporangiosporen während des Versuchs geboten wird.

Bei den hier angegebenen Bedingungen atmen die unvorbehandelten Sporangiosporen erheblich stärker als Ascosporen von *Neurospora* in Aqua dest. bzw. Phosphatpuffer: *Phycomyces blakesleeanus* $Q_{O_2} = 1{,}92 \pm 0{,}23$; *Neurospora*-Ascosporen: $Q_{O_2} = 0{,}25$[2]. Dieser Unterschied wird durch das Substrat bedingt, denn unvorbehandelte *Phycomyces*-Sporen atmen in destilliertem Wasser ebenfalls weitaus schwächer als in Standard-Nährlösung, $Q_{O_2} = 0{,}185 \pm 0{,}049$ (vgl. auch HALBSGUTH und RUDOLPH 1959). Dieser Wert stimmt relativ gut mit dem überein, der von GODDARD und SMITH (1938) für *Neurospora*-Ascosporen ermittelt wurde.

Beim Überimpfen der Sporangiosporen von destilliertem Wasser in Standard-Nährlösung tritt somit eine etwa 10fache Atmungssteigerung ein; im Durchschnitt keimen aber nur 3,6% der Sporen. Während für 3 Wochen alte Ascosporen von *Neurospora* durch die Wärmevorbehandlung eine etwa 42fache Atmungssteigerung erzielt werden kann, ist bei Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* in Standard-Nährlösung nur eine etwa 5,9fache Steigerung der Atmung als Folge der Wärmeaktivierung nachzuweisen. Dabei tritt jedoch ein CO_2-Ausstoß auf, der bei der 10fachen Atmungssteigerung, die die unvorbehandelten Sporen nach Überimpfen in Standard-Nährlösung erfahren, nicht nachzuweisen ist. Aus welcher Reaktion dieser infolge der Wärmeaktivierung auftretende CO_2-Ausstoß stammt, wird zur Zeit geprüft.

Auch für *Neurospora*-Ascosporen ist ein CO_2-Ausstoß nach Wärmeaktivierung bekannt.

[1] Wärmevorbehandlung 3 min bei 50° C.

[2] Nach GODDARD und SMITH (1938).

GODDARD (1939) gibt den Respiratorischen Quotienten wärmevorbehandelter Ascosporen mit 1,70 an (aus dem Intervall $^1/_2$—$1^1/_2$ Std nach der Vorbehandlung ermittelt). Für Sporen, die Keimschläuche bilden, beträgt der Wert 1,01, für unvorbehandelte Sporen 0,85. Auch von SUSSMAN wird in verschiedenen Publikationen unter anderem von einem CO_2-Ausstoß im Anschluß an eine Aktivierung der Ascosporen (durch Wärme bzw. Furfurol) berichtet. SUSSMAN et al. (1956) können als Folge der Wärmevorbehandlung eine ständige Anreicherung von Brenztraubensäure in den Sporen nachweisen, während zum gleichen Zeitpunkt Äthanol und Acetaldehyd in das Substrat ausgeschieden werden. Wenn der CO_2-Ausstoß — der in den ersten 60 min nach der Aktivierung besonders stark ist — langsam abklingt, läßt auch die Acetaldehyd- und Äthanolausscheidung nach, und die in den Sporen angereicherte Brenztraubensäure wird fortschreitend abgebaut. Die Autoren glauben, daß im Anschluß an diese glykolytische Phase nach und nach andere Abbauwege für die angereicherte Brenztraubensäure eröffnet werden, womit dann die abklingende Acetaldehyd- und Äthanolbildung verständlich würde. Zur Zeit der Keimschlauchbildung soll ein vollständiges aerobes System den Endabbau übernommen haben (Krebszyklus).

Die Frage, ob ähnlich wie bei den Ascosporen von *Neurospora* bei den Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* durch den Wärmeschock Gärungsprozesse eingeleitet werden und es damit zur Bildung von CO_2, Äthanol und Acetaldehyd kommt, kann zur Zeit noch nicht beantwortet werden. Ebenso wäre auch die Möglichkeit denkbar, daß das CO_2 aus Umsetzungen stammt, die in direkter Beziehung zum Aktivierungsprozeß stehen.

2. *Untersuchungen mit Natriumfluorid*[1]

Die Wirkung des Fermentinhibitors Natriumfluorid besteht bei der Glykolyse und alkoholischen Gärung im wesentlichen in der Blockierung der Umwandlung der Phosphoglycerinsäure in Phosphobrenztraubensäure, wie LOHMANN und MEYERHOF (1934) nachgewiesen haben. Über die Isolierung und Kristallisation der Enolase aus Hefe haben WARBURG und CHRISTIAN (1941 bzw. 1942) berichtet. Das Ferment wurde als Metallprotein erkannt. Das Enolaseprotein selbst ist inaktiv, kann aber durch Mg, Mn und Zn aktiviert werden. Die Fluoridhemmung konnte als die Bildung einer inaktiven Magnesium-Fluoro-phosphoenolase geklärt werden.

Die Enolase ist zwar das fluoridempfindlichste Ferment der Glykolyse und Gärung, jedoch sind noch zahlreiche weitere Umwandlungen bekannt geworden, die durch Fluorid gehemmt werden können. (Ein Überblick über die entsprechende Literatur findet sich bei BOREI 1945 und JAMES 1953.) Das heißt, die Wirkung von NaF ist nicht streng spezifisch, und man muß damit rechnen, daß der Inhibitor an verschiedenen Stellen in das Stoffwechselgeschehen eingreift. Dennoch kann NaF zur Klärung bestimmter Fragen herangezogen werden, wenn man sich stets der Einwände bewußt bleibt, die prinzipiell bei Versuchen mit Fermentinhibitoren in vivo zu machen sind.

So haben z. B. GODDARD und SMITH (1938), GODDARD (1939) und SUSSMAN u. Mitarb. (1958) NaF zu keimungsphysiologischen Untersuchungen an *Neurospora*-Ascosporen benutzt. Die Ergebnisse dieser Autoren werden in den folgenden Abschnitten diskutiert.

[1] Konzentrationsveränderungen, die sich durch das Auftreten von schwer löslichen Fluoridniederschlägen in Standard-Nährlösung ergeben, bleiben unberücksichtigt.

a) Die Wirkung von Natriumfluorid auf die Keimung der Sporen von *Phycomyces blakesleeanus*. Die Erkenntnis, daß die Wirksamkeit von Fermentinhibitoren in starkem Maße durch den p_H-Wert beeinflußt wird, bedingt, daß der p_H-Einstellung besondere Bedeutung zukommen muß. Eine zusammenfassende Darstellung dieses Problems findet sich bei SIMON und BEEVERS (1952). Deshalb wird der Einfluß von NaF bei verschiedenen p_H-Werten des Kulturmediums auf die Keimung der Sporangiosporen untersucht. Als gekeimt werden die Sporen gezählt, die nach 6 Std deutlich Vakuolen ausgebildet haben. (Zur Berechtigung dieses Verfahrens vgl. SOMMER und HALBSGUTH 1957 und HALBSGUTH und RUDOLPH 1959.) Bei p_H 4,18, 4,60, 5,60, 6,50 und 7,50 wird diejenige NaF-Konzentration ermittelt, durch die eine 50%ige Keimungshemmung hervorgerufen wird (vgl. Abb. 2). Dieser Wert kann exakt angegeben werden, denn die Kurven, die die Keimungshemmung als Funktion der NaF-Konzentration bei konstant eingestelltem p_H-Wert zeigen, haben in diesem Bereich den größten Anstieg. Die Wirksamkeit von NaF ist bei niedrigem p_H-Wert stärker als im neutralen Bereich. So muß z. B. die NaF-Konzentration, die bei p_H 7,50 eine 50%ige Keimungshemmung hervorrufen soll, 0,182 molar sein. Um eine gleichstarke Hemmung hervorzurufen, genügt bei p_H 4,18 NaF in der Konzentration 0,0045 molar. Die Wirksamkeit von NaF ist also bei p_H 4,18 40mal größer als bei p_H 7,50. Die an den Sporen von *Phycomyces* experimentell erzielten Werte fügen sich so gut in das für schwache Säuren und Laugen von SIMON und BEEVERS (1952) zusammenfassend dargestellte Reaktionsverhalten ein.

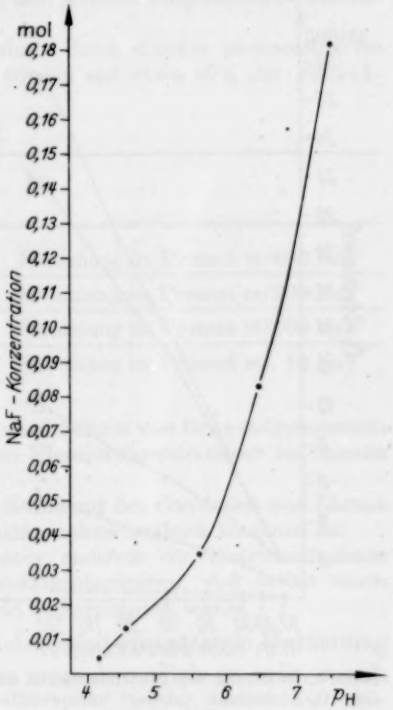


Abb. 2. Die „50%-Hemmungskonzentration von NaF" als Funktion des p_H-Wertes; Sporen 3 min bei 50° C wärmevorbehandelt; Keimprozentsatz 6 Std nach Beimpfung ausgezählt

Dieses Ergebnis zeigt mit aller Eindringlichkeit, welche Bedeutung dem p_H-Wert bei Versuchen mit NaF zukommt, denn eine geringfügige p_H-Veränderung kann eine Hemmung von 100% völlig aufheben.

Für *Neurospora*-Ascosporen fanden GODDARD und SMITH (1938) und GODDARD (1939), daß NaF m/10 die Keimung wärmevorbehandelter Sporen völlig hemmt.

SUSSMAN u. Mitarb. (1958) erkannten unter anderem die p_H-Abhängigkeit der Fluoridhemmung bei *Neurospora*-Ascosporen.

b) Die Wirkung von Natriumfluorid auf die O_2-Aufnahme der Sporen. In Abb. 3 ist die Wirkung verschiedener NaF-Konzentrationen auf die O_2-Aufnahme wärmevorbehandelter Sporangiosporen dargestellt. Mit steigender Konzentration des Inhibitors wird die O_2-Aufnahme geringer. Die Hemmung setzt nicht sogleich in voller Stärke ein. Um dies zu veranschaulichen, wird aus den Kurven jeweils der O_2-Verbrauch für das 1. 2. 3. . . . 10. 10 min-Intervall ermittelt und daraus die hervorgerufene Atmungshemmung in Prozent errechnet (Tabelle 1). Der jeweiligen für die betreffende Konzentration konstanten Hemmung ist eine verschieden lange Induktionsphase vorgeschaltet. So wird im dargestellten Versuch bei der NaF-Konzentration m/10 schon vom 2. 10 min-Intervall an die Hemmung konstant. Bei NaF m/200 stellt sich erst nach dem 7. 10 min-Intervall ein konstanter Wert ein. Bei NaF m/400 ist die Hemmung anfangs gering, wird dann langsam stärker, erreicht aber nach dem 11. 10 min-Intervall noch keinen konstanten Wert.

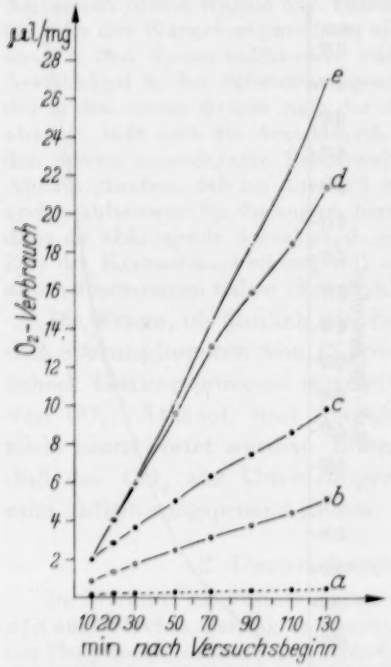


Abb. 3. Wirkung von Natriumfluorid auf die O_2-Aufnahme (µl/mg) wärmevorbehandelter Sporen. Versuchsbeginn („0") 3 min nach Substratzusatz. *a* Standard-Nährlösung + NaF m/10; p_H 4,18; 18,2 mg Sporen/Versuchsgefäß; *b* Standard-Nährlösung + NaF m/100; p_H 4,12; 18,50 mg Sporen/Versuchsgefäß; *c* Standard-Nährlösung + NaF m/200; p_H 4,13; 3,7 mg Sporen/Versuchsgefäß; *d* Standard-Nährlösung + NaF m/400; p_H 4,10; 4,7 mg Sporen/Versuchsgefäß; *e* Standard-Nährlösung (Kontrolle) p_H 4,18; 4,8 mg Sporen/Versuchsgefäß

Ist in der Kontrolle die Rate der O_2-Aufnahme nicht mehr konstant — dies ist in der Regel nach 100—110 min der Fall —, so ändert sich das Bild. Je nach dem Grade der zu diesem Zeitpunkt eingetretenen Hemmung sind die einzelnen Proben in der Lage, den Anstieg in der O_2-Aufnahme mitzumachen.

Interessant ist in diesem Zusammenhang das Ergebnis von WARBURG und CHRISTIAN (1942), daß auch am isolierten Enolasesystem die NaF-Hemmung nicht sofort mit voller Stärke einsetzt. Die Induktionszeit liegt in der Größenordnung Minuten und scheint den Autoren zu lang für eine Verdrängungsreaktion von Salzen. Bei intakten pflanzlichen Zellen ist diese Anlaufzeit jedoch viel länger.

So haben Runnström und Sperber (1938) bei einer frischen Brauereihefe bei der NaF-Konzentration 6×10^{-2} mM pro Ansatz eine langsam einsetzende NaF-Hemmung der Gärung beobachtet.

Bonner und Wildman (1946) haben unter anderem NaF bei der Untersuchung der Atmung von Spinatblättern verwendet. In den Tabellen 8 und 9, S. 506, wird der gleiche Effekt deutlich, wenn man die von den Autoren vorgenommene Mittelwertbildung nicht beachtet.

Malm (1940) konnte an frischer Bäckerhefe durch direkte photometrische Bestimmung des Fluorids zeigen, daß nach 60 min erst etwa 80% der Fluorid-

Tabelle 1

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	
10 min-Intervall											
1	2	5	11	13	15	17	26	32	35	41	Hemmung in Prozent m/400 NaF
2	59	61	64	66	69	69	72	72	72	72	Hemmung in Prozent m/200 NaF
58	77	80	84	84	84	84	84	84	84	84	Hemmung in Prozent m/100 NaF
91	99	99	99	99	99	99	99	99	99	99	Hemmung in Prozent m/ 10 NaF

menge in die Hefezellen eingedrungen war, die nach 240 min von ihnen aufgenommen wurde. (Werte aus Fig. 1, S. 723, entnommen; Fluoridkonzentrationen im Ansatz 18×10^{-2} mM.)

Borei (1945) hat gefunden, daß die NaF-Hemmung der Oxydation von Lactat durch ein isoliertes Enzymsystem ohne Induktionsphase sogleich konstant ist.

Sussman et al. (1958) untersuchten unter anderem die Fluoridaufnahme unvorbehandelter *Neurospora*-Ascosporen und beobachteten, daß selbst nach 8—10 Std von den Sporen immer noch Fluorid aufgenommen wurde.

So scheint im wesentlichen für die nicht sofort einsetzende Hemmung das Unvermögen des Fermentinhibitors verantwortlich zu sein, rasch in die lebende Zelle einzudringen.

Auf die große Empfindlichkeit der Atmung der Ascosporen von *Neurospora* gegenüber NaF haben Goddard und Smith (1938) hingewiesen. Werden die Q_{O_2}-Werte als Berechnungsgrundlage benutzt, so ergibt sich bei Zusatz von NaF m/10 für unvorbehandelte Sporen eine Atmungshemmung von 81,5%, für wärmevorbehandelte Sporen von 64,7% und für keimende Sporen eine Hemmung von 95,2%.

Insbesondere interessiert die Frage, worauf die Hemmung der Atmung durch Fluorid zurückzuführen ist. Beruht die Hemmung lediglich auf der Blockierung der Enolase oder greift NaF auch direkt an anderen Stellen in den Atmungsstoffwechsel hemmend ein?

So sehen Bonner und Wildman (1946) die Hemmung der Atmung von Spinatblättern durch NaF 0,1 mg/cm³ als Folge der blockierten Enolase an, denn die stark gehemmte O_2-Aufnahme und CO_2-Abgabe erreicht nach Zugabe von 2,5 bzw. 5 mg/cm³ Brenztraubensäure wieder etwa den Wert der Kontrolle. Fluoridvergiftete Blätter dagegen sind nicht in der Lage, Glucose zu veratmen.

Bonner und Millerd (1953) geben S. 141, Tabelle IV eine Zusammenstellung der Wirkung verschiedener NaF-Konzentrationen auf die Phosphat- und Sauer-

stoffaufnahme eines Enzymsystems an, das α-Ketoglutarsäure zu oxydieren vermag. Dabei wird die Sauerstoffaufnahme durch NaF 0,01 bzw. 0,03 mol. erheblich gehemmt.

Wie aber bereits auf S. 510 erwähnt, ist die Wirkung von NaF nicht streng spezifisch.

RUNNSTRÖM, BOREI und SPERBER diskutieren (1939) in ihrer Arbeit: „Wo setzt die Hemmung der Hefeatmung durch Fluorid ein?" direkt diese Frage. Die Autoren kommen auf Grund ihrer Versuche an Bäckerhefe zum Ergebnis, daß nicht nur allein „. . . Spaltungsprozesse, sondern auch die Atmung von der Hemmung durch Fluorid direkt getroffen wird". Bei bestimmten Fluoridkonzentrationen konnten sie nachweisen, daß die aerobe Gärung nicht angegriffen wird, ja sogar eine Förderung erfährt, während die Atmung stark, aber nicht völlig blockiert wird. Bei stärkeren Fluoridkonzentrationen werden Atmung und aerobe Gärung etwa gleichmäßig gehemmt. Auch die Veratmung einer Anzahl anderer Substrate, wie z. B. Alkohol, Brenztraubensäure, Methylglyoxal, Milchsäure, Essigsäure, Acetaldehyd und Bernsteinsäure, wird durch Fluorid gestört.

BOREI versuchte, genauere Angaben über die Lokalisation des Angriffspunktes von NaF zu machen. An isolierten Enzymsystemen konnte der Autor (1945) nachweisen, daß Fluorid an den Cytochromen, speziell an Cytochrom c, angreift, während die Cytochromoxydase nicht blockiert wird (vgl. aber auch KEILIN und HARTREE 1939). Bei der Hemmung soll die Proteinkomponente eine Rolle spielen. Der Autor glaubt, seine experimentellen Ergebnisse so deuten zu können, daß es — ähnlich wie bei der Enolase — zur Bildung eines Fluorophosphoproteins kommt. Auch an lebenden Hefezellen wird wahrscheinlich das Cytochrom c bei der Blockierung der Atmung durch NaF eine wesentliche Rolle spielen. Damit verlieren die Überlegungen zu dieser Frage von RUNNSTRÖM, BOREI und SPERBER (1939) und BOREI (1939) ihre Gültigkeit. Die Ergebnisse BOREIS (1945) stehen so im Einklang mit der Arbeit von STOTZ und HASTINGS (1937), in der unter anderem über eine Hemmung der Oxydation von Paraphenylendiamin durch ein isoliertes cytochromhaltiges System, das Succinat zu oxydieren vermag, berichtet wird.

Außerdem ist bekannt, daß die Oxydation der Bernsteinsäure durch NaF gehemmt werden kann (vgl. Lit. BOREI 1945).

Nach BONNER jun. (1951) spielt Phosphat dabei eine entscheidende Rolle. SLATER und BONNER jun. (1951) diskutieren die Bildung eines inaktiven Fluorphosphoenzyms, wobei die Anwesenheit von Mg bedeutungslos ist.

Auch die Carboxylase kann unter Umständen durch NaF gehemmt werden (vgl. Lit. BOREI 1945).

c) Die Wirkung von NaF auf die Veratmung der Brenztraubensäure und des Ammoniumacetats. Wenn die Atmungshemmung durch NaF lediglich in der Blockierung der Enolase bestünde, dürfte im wesentlichen die Veratmung von Brenztraubensäure und Acetat durch NaF nicht beeinflußt werden. Die Sporangiosporen sind zu Versuchen mit Brenztraubensäure und Ammoniumacetat gut geeignet.

Acetat hat sich seit den Untersuchungen von ROBBINS et al. (1942) und insbesondere seit SOMMER und HALBSGUTH (1957) als eine Substanz erwiesen, die außerordentlich stark die Keimung unvorbehandelter Sporen von *Phycomyces blakesleeanus* fördert. Der Wirkungsmechanismus ist noch nicht geklärt.

Kann das Acetat von wärmevorbehandelten Sporen auch als Kohlenstoffquelle genutzt werden? Wird die Veratmung des Acetats durch Fluorid blockiert?

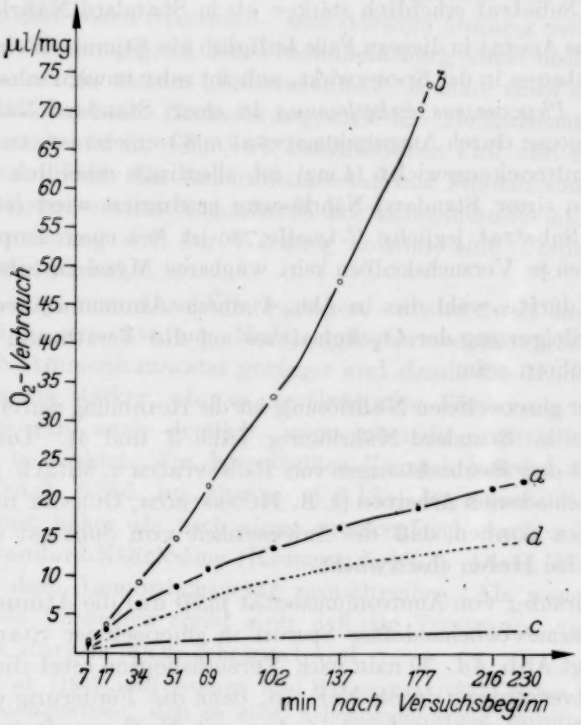


Abb. 4. Wirkung von Natriumfluorid auf die Veratmung des Ammoniumacetats m/80. Versuch K 13/a: Ende der Aktivierung 13^{48} Uhr; Zukippen des Substrates 14^{01} Uhr; Versuchsbeginn („0") 14^{09} Uhr. *a* Standard-Nährlösung ohne Glucose; p_H 4,15; 5,8 mg Sporen/Versuchsgefäß; *b* Standard-Nährlösung ohne Glucose + Ammoniumacetat m/80; p_H 4,19; 5,1 mg Sporen/Versuchsgefäß; *c* Standard-Nährlösung ohne Glucose + NaFm/100; p_H 4,15; 5,2 mg Sporen/Versuchsgefäß; *d* Standard-Nährlösung ohne Glucose + Ammoniumacetat m/80 + NaFm/100; p_H 4,14; 6,6 mg Sporen/Versuchsgefäß

Zur Klärung dieser Fragen trägt folgender Versuch bei: Keimung, O_2-Verbrauch und Mycelentwicklung[1] wärmevorbehandelter Sporen werden in folgenden Substraten untersucht (Abb. 4):

a) Standard-Nährlösung ohne Glucose (−Glucose);
b) Standard-Nährlösung − Glucose + Ammoniumacetat m/80;
c) Standard-Nährlösung − Glucose + NaFm/100;
d) Standard-Nährlösung − Glucose + Ammoniumacetat m/80 + NaFm/100.

Enthält die Nährlösung keine Glucose, so läßt der Sauerstoffverbrauch alsbald nach, bis sich schließlich eine konstante Atmungsrate einstellt.

[1] Sterilisation des Substrates ↑↓ 110° C; 5 ml Nährlösung je Versuchskolben.

Wird in einer Standard-Nährlösung die Glucose durch Ammoniumacetat m/80[1] ersetzt, so erfolgt bald nach Zusatz des Substrates die O_2-Aufnahme mit verstärkter Intensität. Die Atmung der Sporen ist in diesem Substrat erheblich stärker als in Standard-Nährlösung.

Daß das Acetat in diesem Falle lediglich als Stimulans eines Reservesubstratabbaues in der Spore wirkt, scheint sehr unwahrscheinlich; denn es gelingt, *Phycomyces blakesleeanus* in einer Standard-Nährlösung, in der die Glucose durch Ammoniumacetat m/80 ersetzt ist, zu kultivieren. Das Gesamttrockengewicht (4 mg) ist allerdings erheblich geringer als das, das in einer Standard-Nährlösung produziert wird (etwa 19 mg). Fehlt im Substrat jegliche C-Quelle, so ist bei einer Impfdichte von 5—7 Sporen je Versuchskolben kein wägbares Myzel zu erfassen.

Somit dürfte wohl die in Abb. 4 durch Ammoniumacetat hervorgerufene Steigerung der O_2-Aufnahme auf die Veratmung von Acetat zurückzuführen sein.

In einer glucosefreien Nährlösung ist die Hemmung durch NaF m/100 stärker als in Standard-Nährlösung (Abb. 3 und 4). Dieser Befund stimmt mit den Beobachtungen von RUNNSTRÖM u. Mitarb. gut überein, die in verschiedenen Arbeiten (z. B. RUNNSTRÖM, GURNEY und SPERBER 1941) zeigen können, daß die Anwesenheit von Substrat die Fluoridhemmung bei Hefen abschwächt.

Die Wirkung von Ammoniumacetat m/80 auf die Atmung NaF-vergifteter wärmevorbehandelter Sporen in glucosefreier Standard-Nährlösung zeigt Abb. 4*d*. 30 min nach Versuchsbeginn setzt die Hemmung der Acetatveratmung durch NaF ein, denn die Förderung der Atmung durch Ammoniumacetat wird in den mit NaF vergifteten Ansätzen fortschreitend geringer, während in den unvergifteten Ansätzen die Acetatförderung stetig zunimmt.

Die relativ starke Förderung der Atmung NaF-vergifteter wärmevorbehandelter Sporen durch Ammoniumacetat zu Versuchsbeginn ist nur zum Teil eine spezifische Acetatwirkung. Denn, wie bereits erwähnt, ist der Grad der Fluoridhemmung von der Intensität des Stoffwechsels abhängig. Durch den Zusatz von Ammoniumacetat m/80 wird eine enorme Intensivierung des Stoffwechselgeschehens erreicht, die NaF-Hemmung damit abgeschwächt. Will man das Ausmaß der reinen Acetatförderung in diesem Falle abschätzen, so dürfen die Werte der Abb. 4*c* nicht als Grundlage der Berechnung benutzt werden. In diesem Fall ist der Stoffwechsel infolge der fehlenden C-Quelle stark herabgesetzt. Als Vergleichsbasis können jedoch etwa die Werte dienen, wie sie in

[1] Die Konzentration m/80 wurde entsprechend den Ergebnissen von SOMMER und HALBSGUTH (1957, S. 77, Abb. 13), gewählt. Unvorbehandelte Sporen keimen in meinen Versuchen in diesem Substrat zu 95% (Kontrolle 0%).

Abb. 3 für die NaF-Hemmung der Atmung in Standard-Nährlösung ermittelt wurden.

Da bei der C-Quelle Ammoniumacetat verglichen mit Glucose — zumindest in den ersten Stunden — eine stärkere Atmung nachzuweisen ist, wird der Wirkungsgrad der Fluoridhemmung eher noch geringer als stärker sein. Zu diesem „Substrateffekt" kommt noch die bereits auf S. 512 beschriebene Beobachtung, daß die Fluoridhemmung nur langsam einsetzt und in dem dort beschriebenen Fall erst etwa nach 30 min konstant wird. Da Ammoniumacetat und Fluorid zum gleichen Zeitpunkt geboten werden, kann durch das Ammoniumacetat, noch ehe die Fluoridhemmung voll zur Wirkung kommt, eine Förderung der O_2-Aufnahme eintreten.

Berücksichtigt man diese Überlegungen, so wird zwar das Ausmaß der Förderung der Atmung NaF-vergifteter wärmevorbehandelter Sporen durch Ammoniumacetat geringer und damit die Hemmung der Acetatveratmung stärker, aber es verbleibt eine Förderung durch das Acetat. Dies wird auch deutlich, wenn man die ermittelten Keimprozentsätze betrachtet. Im dargestellten Versuch beträgt der Keimprozentsatz nach 6 Std im Ansatz c) 6,1%, im Ansatz d) 31,5%[1] und liegt somit höher als nach einer entsprechend starken NaF-Vergiftung in Standard-Nährlösung (Keimung 5,1% [2]). Diese Wirkung ist dann speziell dem Ammoniumacetat zuzuschreiben. Als wesentlichstes Resultat dieses Versuches ergibt sich, daß die Veratmung von Acetat durch NaF in starkem Maße gehemmt wird.

Robbins et al. (1942) und Sommer und Halbsguth (1957) haben für Brenztraubensäure nachgewiesen, daß sie eine Keimungsförderung unvorbehandelter Sporen bewirkt. Ohne Brenztraubensäure keimen nach Sommer und Halbsguth (1957) etwa 3%, bei 0,25 mol. Brenztraubensäure etwa 78% der Sporen (Werte aus Abb. 12, S. 76 entnommen). Die Brenztraubensäure gehört dabei zur Gruppe der Substanzen, die ohne Erhitzen fördernd auf die Keimung unvorbehandelter Sporen wirken. Dabei ist wichtig, daß die Brenztraubensäure, ähnlich wie die Milchsäure, jedoch bei höheren Konzentrationen (0,25—0,5 mol.), neben der Keimungsförderung auch die Keimschlauchbildung hemmt. Die Keimungsförderung der Brenztraubensäure (und des Propionats) geht im Gegensatz zu Ammoniumacetat verloren, wenn das Keimmedium keine Glucose enthält. Zur Wirkungsweise der Brenztraubensäure werden von den Autoren 2 Möglichkeiten diskutiert. Entweder beruht die Wirkung der Brenztraubensäure auf einer Verunreinigung des Präparates oder die Brenztraubensäure geht selbst in den Stoffwechsel ein.

Die Keimungsförderung unvorbehandelter Sporen durch Brenztraubensäure kann bestätigt werden; die von mir als wirksam ermittelten Konzentrationsbereiche sind nur unwesentlich verschieden. Brenztraubensäure-Zusätze in den Konzentrationen m/8 und m/16 zur Standard-Nährlösung liefern Keimprozentsätze von 98%. Bei höheren Konzen-

[1] Die Vakuolen sind jedoch sehr klein!

[2] Mittelwert aus 5 Versuchen.

trationen tritt die von SOMMER und HALBSGUTH (1957) beschriebene Verzögerung der Keimschlauchbildung auf. Die stärkere Wirksamkeit könnte sowohl mit der Güte der Brenztraubensäure-Präparate zusammenhängen als auch damit, daß in meinen Experimenten der p_H-Wert des Versuchssubstrates auf p_H 4,18 eingestellt war[1].

So ist für die Brenztraubensäure erwiesen, daß sie auf die unvorbehandelten Sporangiosporen wirkt und damit wahrscheinlich auch in die Sporen eindringt. Es entfällt damit die Schwierigkeit, die bei *Neurospora*-Ascosporen existiert (vgl. GODDARD 1939).

Wird mit Brenztraubensäure m/16 der entsprechende Versuch, wie er für Ammoniumacetat (vgl. S. 515) beschrieben wurde, durchgeführt, so ergibt sich, daß Brenztraubensäure in dieser Konzentration Glucose als C-Quelle im Intervall 0—100 min völlig ersetzen kann. Nach diesem Zeitpunkt liefert die Veratmung von Brenztraubensäure lediglich niedrigere Werte. In den mit NaF m/100 vergifteten Ansätzen fördert Brenztraubensäure m/16 die Sauerstoffaufnahme geringfügig; diese Förderung ist vermutlich keine spezifische Brenztraubensäure-Wirkung, sondern beruht wahrscheinlich auf dem Nachlassen der Fluoridhemmung infolge des intensivierten Stoffwechsels.

Für die Veratmung der Brenztraubensäure unter den angegebenen Versuchsbedingungen hat sich so eine völlige Hemmung durch NaF m/100 ergeben. Eine ausführliche Darstellung dieser Ergebnisse erfolgt zu einem anderen Zeitpunkt.

d) Die Wirkung von Natriumfluorid auf den Respiratorischen Quotienten. Wie bereits auf S. 508 beschrieben, tritt bei wärmevorbehandelten Sporen nach Einbringen in Nährlösung ein CO_2-Ausstoß auf. Bestimmt man für das 1., 2., 3. . . . 10. 5 min-Intervall den Quotienten $\mu l\ CO_2/\mu l\ O_2$, so erhält man die Werte, wie sie in Abb. 5*a* dargestellt sind. Der CO_2-Ausstoß wird in Form eines erhöhten Respiratorischen Quotienten deutlich. Nach etwa 65 min betragen die Werte im Mittel 1,05, der CO_2-Ausstoß ist dann fast abgeklungen. Enthält der Ansatz NaF m/100, so ergeben sich höhere Respiratorische Quotienten (Abb. 5*b*). Die Werte fallen von 2,80 auf 1,30 nach 65 min ab und liegen deutlich höher als die der Kontrolle. Extrem verändert sich der Quotient, wenn man den Ansatz mit NaF m/10 vergiftet (Abb. 5*c*). In diesem Falle werden Werte >12 erreicht; selbst zu einem Zeitpunkt, zu dem in der Kontrolle der CO_2-Ausstoß längst abgeklungen ist, betragen die Werte für den Respiratorischen Quotienten noch 5,5 (nach 110 min R. Q. = 3,9). Dies zeigt deutlich, daß NaF nicht nur in jene primäre Phase entscheidend eingreift, die durch den CO_2-Ausstoß gekennzeichnet ist, sondern daß auch das

[1] Die Brenztraubensäure (Riedel de Haën AG) wird für den Versuch in 1 mol. Lösung angesetzt und dabei durch NaOH-Zusatz auf p_H 4,10 eingestellt.

anschließende Stoffwechselgeschehen in gleicher Tendenz beeinflußt wird. Welches sind die Ursachen für die Veränderungen des Respiratorischen Quotienten durch NaF?

Wie bereits auf S. 510 erwähnt, ist es zur Zeit nicht möglich, Aussagen über die Herkunft dieses „Extra-CO_2" zu machen. So sind alle diesbezüglichen Überlegungen hypothetisch (vgl. hierzu S. 525f.).

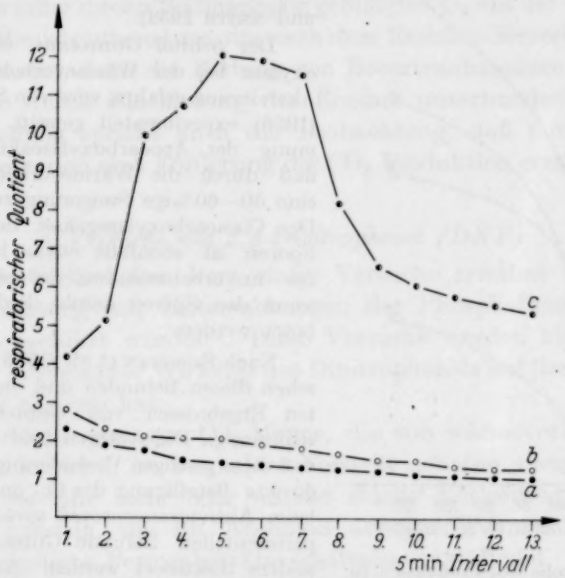


Abb. 5. Veränderung des Respiratorischen Quotienten durch Natriumfluorid-Zusatz zur Standard-Nährlösung. Versuchsbeginn („0") 2 min nach Substratzusatz. Für das 1., 2., 3. . . . 13. 5 min-Intervall wird der Quotient: Rate der CO_2-Abgabe/Rate der O_2-Aufnahme gebildet. *a* wärmevorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung; p_H 4,18; 5,5 mg Sporen/Versuchsgefäß; *b* wärmevorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung + NaF m/100 p_H 4,10; 32 mg Sporen/Versuchsgefäß; *c* wärmevorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung + NaF m/10; p_H 4,18; 18,0 mg Sporen/Versuchsgefäß

e) Die Bildung von CO_2 unter anaeroben Bedingungen und die Wirkung von Natriumfluorid auf diesen CO_2-Ausstoß.

Die Vorstellung, daß NaF bei *Neurospora*-Ascosporen im wesentlichen an der Enolase angreift, führte so zu Untersuchungen der anaeroben CO_2-Produktion der Sporen. Unvorbehandelte Sporen produzieren nach Goddard und Smith (1938) (vgl. auch Sussman 1958) unter anaeroben Bedingungen praktisch kaum meßbares CO_2. Nach Goddard (1939) ist $Q^N_{CO_2} < 0{,}03$. Wärmevorbehandelte Sporen entwickeln dagegen je nach Aktivierungstemperatur in verschieden starkem Maße CO_2. Nach etwa 3 Std ist diese CO_2-Entwicklung wieder abgeklungen (Goddard und Smith 1938). Sussman et al. (1958) bestätigten unter anderem die anaerobe CO_2-Produktion bei *Neurospora* und wiesen nach, daß das relativ rasche Nachlassen der CO_2-Bildung nicht durch den Mangel an Glucose im Substrat bedingt ist, denn die wärmevorbehandelten Ascosporen vergären unter anaeroben Bedingungen keine Glucose. Nach Goddard und Smith (1938) hemmt Na F m/10 diese anaerobe CO_2-Produktion. Werden die $Q^N_{CO_2}$-Werte

als Grundlage benutzt, so läßt sich für wärmevorbehandelte Sporen eine Hemmung von 73% errechnen. Diese Hemmung kann durch Zugabe von Brenztraubensäure (m/40) wieder aufgehoben werden. Unvorbehandelte Sporen dagegen können auch bei gebotener Brenztraubensäure (m/40) — obgleich diese in die Sporen eindringt — kein CO_2 bilden. Diese Ergebnisse führen unter anderem zur Vorstellung der Autoren, daß "the respiratory block is then the inactivity of the enzyme carboxylase" (GODDARD und SMITH 1938).

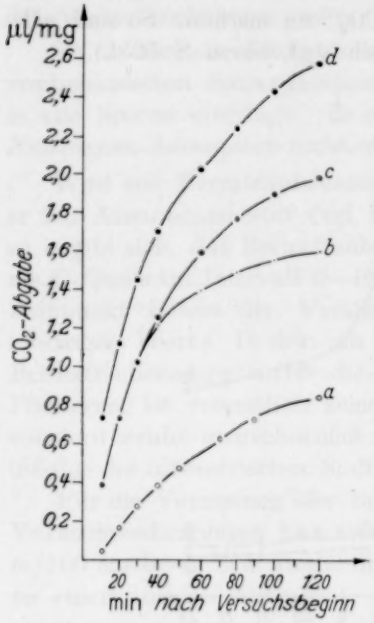


Abb. 6. Anaerobe CO_2-Produktion in µl/mg. Zusatz des Substrates 15 min nach der Wärmeaktivierung; Versuchsbeginn („0") 2 min nach Substratzusatz. *a* unvorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung; p_H 4,15; 24,3 mg Sporen/Versuchsgefäß; *b* wärmevorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung; p_H 4,17; 20,5 mg Sporen/Versuchsgefäß; *c* wärmevorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung + NaFm/100; p_H 4,15; 18,9 mg Sporen/Versuchsgefäß; *d* wärmevorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung + NaFm/10; p_H 4,15; 15,7 mg Sporen/Versuchsgefäß

Der Schluß GODDARDS, daß die Carboxylase bei der Wärmevorbehandlung eine Aktivierung erfahre, wird von SUSSMAN et al. (1956) experimentell geprüft. Die Bestimmung der Apocarboxylaseaktivität ergibt, daß durch die Wärmevorbehandlung nur eine 50—60%ige Steigerung zu erzielen ist. Der Cocacarboxylasegehalt der aktivierten Sporen ist ebenfalls etwas höher als der der unvorbehandelten, jedoch nur dann, wenn den Sporen aerobe Bedingungen geboten werden.

Nach SUSSMAN et al. (1956) besteht zwischen diesen Befunden und unveröffentlichten Ergebnissen von GODDARD Übereinstimmung. Die Autoren sind der Meinung, daß diese geringen Veränderungen gegen eine direkte Beteiligung des Co- und Apoenzyms beim Aktivierungsprozeß sprechen. Die experimentellen Befunde GODDARDS müssen anders diskutiert werden. Ansätze hierzu finden sich bei SUSSMAN et al. (1956) (vgl. S. 525f.).

Auch bei wärmevorbehandelten Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* läßt sich unter anaeroben Bedingungen in Standard-Nährlösung eine CO_2-Bildung nachweisen (Abb. 6*b*). Diese CO_2-Produktion, die in den ersten 40 min relativ stark ist, klingt dann rasch ab, und nach 180 min ist die Zunahme fast Null geworden.

Anders sind die Verhältnisse bei den unvorbehandelten Sporen. Im Gegensatz zu den unvorbehandelten Ascosporen von *Neurospora* sind diese in der Lage, unter anaeroben Bedingungen nach Überimpfen in Standard-Nährlösung CO_2 zu produzieren (vgl. Abb. 6*a*), aber in geringerem Maße als nach Wärmevorbehandlung. Dieses abweichende Verhalten dürfte wohl mit der auf S. 509 bereits dargestellten Reaktion der Sporangiosporen auf Standard-Nährlösung in Zusammenhang gebracht werden.

Die Wirkung von NaF auf die anaerobe CO_2-Produktion der Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* ist jedoch völlig anders als bei den *Neurospora*-Ascosporen unter entsprechenden Bedingungen. Durch NaF m/100 und m/10 wird der anaerobe CO_2-Ausstoß nicht reduziert, sondern die nach Vergiftung produzierte CO_2-Menge ist sogar noch größer (Abb. 6*c*, *d*). Auf Grund dieser Ergebnisse ist es unwahrscheinlich, daß das unter diesen Bedingungen gebildete CO_2 aus der Decarboxylierung der Brenztraubensäure, die nach dem Embden-Meyerhof-Schema entsteht, stammt, denn die Bildung von Brenztraubensäure auf diesem Wege dürfte durch Blockierung der Enolase unterbunden sein. Für diese Vorstellung spricht auch die Beobachtung, daß mit steigender NaF-Konzentration eine Förderung der CO_2-Produktion erreicht werden kann.

3. Versuche mit 2,4-Dinitrophenol (DNP)

An dieser Stelle sollen kurz einige Versuche erwähnt werden, die im Zusammenhang mit Untersuchungen des Phosphathaushaltes der Sporen durchgeführt wurden[1]. Diese Versuche werden hier erwähnt, da sich eine interessante Wirkung des Dinitrophenols auf den anaeroben CO_2-Ausstoß ergeben hat.

Bei der relativ geringen CO_2-Menge, die von wärmevorbehandelten Sporen gebildet wird, ist besondere Vorsicht geboten, denn es könnte sich dabei um eine mehr oder minder starke Entleerung eines CO_2-Reservoirs handeln, die im Anschluß an den Wärmeschock durch eventuell geänderte Permeabilitätsverhältnisse stattfindet. Die Förderung der anaeroben CO_2-Bildung durch NaF macht diese Überlegungen unwahrscheinlich. Besonders aber die Resultate, die aus Versuchen mit DNP gewonnen wurden, stützen die Auffassung, daß die anaerobe CO_2-Entwicklung als aktive Neuproduktion infolge der eingeleiteten Keimungsvorgänge anzusehen ist.

In mehreren Versuchen wurde zuerst der Konzentrationsbereich ermittelt, in dem DNP eine Wirkung auf das Stoffwechselgeschehen des Keimungsprozesses zeigt.

a) Die Wirkung von 2,4-Dinitrophenol auf Keimung und Atmung der wärmevorbehandelten Sporen. In Abb. 7 ist die Atmung wärmevorbehandelter Sporen in Abhängigkeit von der DNP-Konzentration in Prozent der Kontrolle dargestellt. Als Berechnungsgrundlage dienen bei der Kurve a) die Werte für den O_2-Verbrauch nach 100 min. Bis zu diesem Zeitpunkt ist die O_2-Aufnahme — wie bereits an anderer Stelle erwähnt — konstant. Die Atmung wird durch niedrige DNP-Konzentrationen gesteigert. In Abb. 7 liegt die maximale Förderung bei der Konzentration $1{,}25 \times 10^{-5}$ mol. Wird die Konzentration erhöht, so ist

[1] Ausführlich wird über diese Ergebnisse an anderer Stelle berichtet werden.

die Förderung geringer, und bei der Konzentration $2{,}2 \times 10^{-5}$ mol. wird der Wert der Kontrolle wieder erreicht. Steigert man die Konzentration des Fermentinhibitors weiter, so tritt eine fortschreitende Hemmung der Atmung ein. Völlig anders ist das Bild, wenn zur Berechnung die Werte des O_2-Verbrauchs nach 180 min zugrunde liegen (Abb. 7*b*). Zu diesem Zeitpunkt ist die Rate der O_2-Aufnahme nicht mehr konstant. Sämtliche mit DNP vergifteten Ansätze (10^{-6} mol. ausgenommen) sind nicht mehr in der Lage, den Anstieg in der O_2-Aufnahme in gleichem Maße mitzumachen. Dies äußert sich bei der Konzentration $0{,}5 \times 10^{-5}$ mol. bereits in einer Hemmung (nach 100 min war noch keine Abweichung gegen über der Kontrolle festzustellen), bei den Konzentrationen 10^{-5} mol., $1{,}25 \times 10^{-5}$ mol. und $1{,}67 \times 10^{-5}$ mol. in einer weitaus geringeren Förderung und bei weiter steigender Konzentration in einer verstärkten Hemmung. Die Wirkung von DNP auf die Keimung wärmevorbehandelter Sporen ist in Abb. 7*c* dargestellt. Der Keimprozentsatz scheint nahezu unverändert bis zur DNP-Konzentration 2×10^{-5} mol., erfährt dann eine starke Hemmung, und bei Konzentrationen $> 10^{-4}$ mol. keimen praktisch keine Sporen mehr; das bedeutet nun nicht, daß bei den Konzentrationen 10^{-5} und 2×10^{-5} mol. kein Effekt des Inhibitors auf die Keimung zu beobachten sei! Die Sporen bilden zwar noch Vakuolen aus, diese sind aber relativ klein, definitionsgemäß jedoch sind solche Sporen als gekeimt zu zählen.

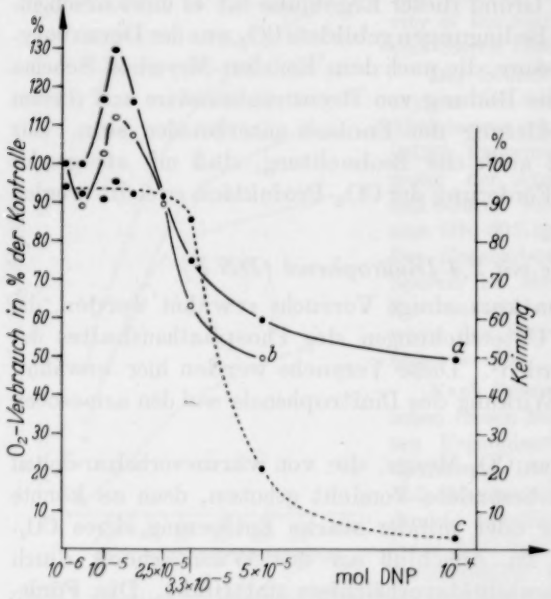


Abb. 7. Zusatz von 2,4-Dinitrophenol in verschiedenen Konzentrationen zur Standard-Nährlösung. Wirkung auf die Keimung und Atmung wärmevorbehandelter Sporen. pH 4,15; O_2-Verbrauch in Prozent der Kontrolle (linke Ordinate). *a* 100 min nach Versuchsbeginn; *b* 180 min nach Versuchsbeginn. *c* Keimung in Prozent (rechte Ordinate). 6 Std nach Beimpfung ausgezählt

Die hier an wärmevorbehandelten Sporangiosporen zu beobachtenden Reaktionen der Atmung und Keimung reihen sich gut in das Bild ein, das aus zahlreichen Arbeiten über die Wirkung von DNP an anderen Objekten gewonnen wurde. Die Wirkung von DNP ist seit den Arbeiten von LOOMIS und LIPMANN (1948), BONNER

und MILLERD (1953) u. a. m. als eine Störung des Phosphathaushaltes erkannt. Die bei oxydativen Prozessen freiwerdende Energie kann in Anwesenheit des Entkopplungsgiftes DNP in bestimmten Konzentrationen nicht mehr zur ATP-Synthese genutzt werden. Durch die Entkopplung der beiden Prozesse und der damit verbundenen Veränderung des ATP/ADP-Spiegels bricht ein wesentliches Stoffwechselregulativ zusammen; so kommt es, daß bei normaler — oft sogar gesteigerter — Atmung energieverbrauchende Prozesse stark gehemmt werden [zusammenfassende Darstellung vgl. SIMON (1953), BRODY (1955), LATTIES (1957) und HUNTER (1951)]. Das Vermögen, die ATP-Synthese von oxydativen Prozessen zu entkoppeln, ist sicherlich nicht die einzige Möglichkeit für Nitro- und Halophenole, in den Stoffwechsel einzugreifen. Besonders bei höheren Konzentrationen wird man damit rechnen müssen, daß die zu beobachtenden Reaktionen (vgl. z. B. Atmungshemmung, Abb. 7) durch das Zusammenspiel anderer Wirkungen zustande kommt (vgl. BRODY 1955).

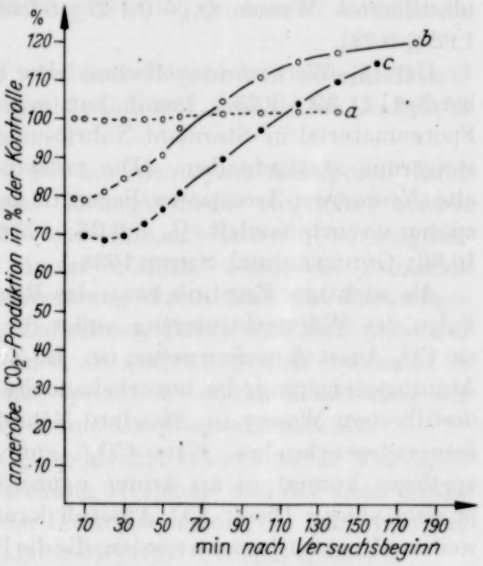


Abb. 8. Wirkung von 2,4-Dinitrophenol-Zusätzen zur Standard-Nährlösung auf die anaerobe CO_2-Produktion wärmevorbehandelter Sporen. Werte in Prozent der Kontrolle; p_H 4,18; Zusatz des Substrates 15 min nach der Wärmeaktivierung; Versuchsbeginn („0") 3 min nach Substratzusatz; *a* DNP $1{,}25 \times 10^{-5}$ mol.; *b* DNP 5×10^{-5} mol.; *c* DNP 10^{-4} mol.

b) Die Wirkung von 2,4-Dinitrophenol auf den anaeroben CO_2-Ausstoß. Der unter anaeroben Bedingungen bei wärmevorbehandelten Sporen zu beobachtende CO_2-Ausstoß wird bei der DNP-Konzentration, die die stärkste Atmungssteigerung hervorruft ($1{,}25 \times 10^{-5}$ mol.), praktisch nicht beeinflußt (Abb. 8*a*). DNP in der Konzentration 5×10^{-5} mol. wirkt sich zuerst hemmend, dann aber fördernd auf die anaerobe CO_2-Produktion aus (Abb. 8*b*). Bei der Konzentration 10^{-4} mol. ist die Hemmung stärker, die Förderung geringer (Abb. 8*c*).

Falls man DNP während des Keimungsvorganges nicht eine wechselnde Beeinflussung der Permeabilität der Sporen zuschreiben will, so deutet dieses Reaktionsverhalten auf eine aktive Neuproduktion von CO_2 im Anschluß an den Wärmeschock.

Eine Diskussion des Wirkungsmechanismus der DNP-Wirkung auf die anaerobe CO_2-Produktion wärmevorbehandelter Sporen ist verfrüht, denn vorher muß die Natur dieser CO_2-Bildung geklärt werden. Diese Aufgabe ist bereits in Angriff genommen.

III. Besprechung der Versuchsergebnisse

Die Atmungsintensität unvorbehandelter und wärmevorbehandelter Sporen von *Phycomyces blakesleeanus* wurde eingehender untersucht. Unvorbehandelte Sporen erfahren nach Überimpfen von destilliertem Wasser in Standard-Nährlösung eine etwa 10fache Atmungssteigerung (destilliertes Wasser $Q_{O_2} = 0{,}185 \pm 0{,}049$; Standard-Nährlösung $Q_{O_2} = 1{,}92 \pm 0{,}23$).

Der Q_{O_2}-Wert wärmevorbehandelter Sporen in Standard-Nährlösung beträgt $11{,}39 \pm 1{,}25$. Damit hat gegenüber dem unvorbehandelten Sporenmaterial in Standard-Nährlösung eine etwa 5,9fache Atmungssteigerung stattgefunden. (Die entsprechenden Werte für 3 Wochen alte *Neurospora*-Ascosporen liegen in derselben Größenordnung; Ascosporen unvorbehandelt $Q_{O_2} = 0{,}25$; wärmevorbehandelt $Q_{O_2} = 10{,}36$ bis 10,86; GODDARD und SMITH 1938.)

Als wichtiges Ergebnis kann das Resultat gewertet werden, daß als Folge der Wärmeaktivierung außer der 5,9fachen Atmungssteigerung ein CO_2-Ausstoß nachzuweisen ist. Im Zusammenhang mit der 10fachen Atmungssteigerung, die unvorbehandelte Sporen erfahren, wenn sie von destilliertem Wasser in Standard-Nährlösung überimpft werden, tritt *kein* entsprechendes „Extra-CO_2" auf. Trotz des starken Atmungsanstieges kommt es zu keiner nennenswerten Erhöhung des Keimprozentsatzes. Dieser CO_2-Ausstoß kann eventuell zum Ansatzpunkt weiterer Untersuchungen werden, die die Klärung des Wirkungsmechanismus der Wärmeaktivierung zum Ziele haben. 1959 haben HALBSGUTH und RUDOLPH die Ansicht vertreten, daß die im Zusammenhang mit der Wärmeaktivierung gesteigerte Atmung nur Folge und nicht Glied der Aktivierungsvorgänge ist, denn die Aktivierung findet auch unter strengen anaeroben Bedingungen statt. Dadurch wird der CO_2-Ausstoß unter anaeroben Bedingungen, der im Anschluß an die Wärmeaktivierung nachzuweisen war, von besonderem Interesse. Wie die Versuche mit NaF und 2,4-Dinitrophenol wahrscheinlich machen, dürfte es sich bei diesen relativ geringen CO_2-Mengen nicht um die Entleerung eines in den Sporen vorhandenen CO_2-Reservoirs handeln, sondern um eine Neuproduktion von CO_2 als Folge des aktivierten Zustandes A der Sporen (zur Definition des aktivierten Zustandes vgl. HALBSGUTH und RUDOLPH 1959). Aus welchen Prozessen dieses CO_2 stammt, ist vorerst nicht zu entscheiden; hier müssen weitere Untersuchungen einsetzen.

Natriumfluorid blockiert je nach Konzentration die Atmung und Keimung wärmevorbehandelter Sporen. Die Wirkung des Inhibitors ist in starkem Maße p_H-abhängig; eine geringfügige p_H-Verschiebung nach dem neutralen Bereich kann genügen, bei konstanter NaF-Konzentration eine Keimungshemmung von 100% völlig aufzuheben. Eine p_H-Änderung vom neutralen nach dem sauren Bereich wirkt umgekehrt.

Daher muß besonders bei Versuchen mit Natriumfluorid stets auf die Konstanz des p_H-Wertes geachtet werden.

Die anaerobe CO_2-Produktion wärmevorbehandelter *Phycomyces*-Sporen wird durch Fluorid nicht blockiert — wie dies bei *Neurospora*-Ascosporen nach GODDARD und SMITH (1938) und GODDARD (1939) der Fall ist —, sondern Natriumfluorid m/100 und m/10 fördern die anaerobe CO_2-Entwicklung[1].

Unter aeroben Bedingungen wird nach Zugabe von Natriumfluorid m/100 und m/10 der Respiratorische Quotient erhöht; bei NaF m/10 werden z. B. Werte >12 erzielt.

Die Vorstellung, daß ähnlich wie bei *Neurospora*-Ascosporen durch die Wärmeaktivierung vorwiegend Gärungsprozesse eingeleitet werden (vgl. SUSSMAN et al. 1956) und wesentliche oxydative Abbaumöglichkeiten sich erst im Anschluß daran eröffnen, würde die Annahme nötig machen, daß die Enolasehemmung durch NaF unvollständiger wäre als die Blockierung der O_2-Aufnahme. Dafür, daß NaF nicht nur die Enolase blockiert, sondern auch an anderen Stellen hemmend in den Atmungsstoffwechsel eingreift, spricht die starke Blockierung der Veratmung der Brenztraubensäure und des Ammoniumacetats.

Eine verstärkte anaerobe CO_2-Produktion bei steigender NaF-Konzentration ist nicht mit der Vorstellung vereinbar, daß das unter diesen Bedingungen gebildete CO_2 aus der Decarboxylierung der Brenztraubensäure stammt, die nach dem Embden-Meyerhof-Schema entsteht.

So muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß — falls das CO_2 nicht aus Umwandlungen frei wird, die mehr oder weniger mit dem Aktivierungsprozeß selbst verknüpft sind — prinzipiell oder nach Blockierung der Enolase ein anderer als der „klassische" Abbauweg vorliegt. Inwieweit in diesem Zusammenhang einige der mannigfachen

[1] Die Versuche von GODDARD und SMITH (1938) und GODDARD (1939) mit NaF und Brenztraubensäure am anaeroben CO_2-Ausstoß wärmevorbehandelter und unvorbehandelter *Neurospora*-Ascosporen wurden von den Autoren unter der Annahme des Meyerhof-Kiessling-Abbauweges so diskutiert, daß in unvorbehandelten Sporen das Carboxylasesystem inaktiv sei und durch die Wärmevorbehandlung aktiviert werde. Diese Interpretation der experimentellen Befunde ist nach den Untersuchungen von SUSSMAN et al. (1956) nicht mehr haltbar. Die fast völlige Gleichwertigkeit des Co- und Apoenzyms im ruhenden und wärmevorbehandelten Zustand der Sporen spricht gegen die Schlüsselstellung der Carboxylase im Aktivierungsprozeß. Damit ergeben sich Schwierigkeiten bei der Deutung der Goddardschen Ergebnisse. SUSSMAN et al. (1956) deuten in diesem Zusammenhang eine andere Interpretation an und erwägen die Möglichkeit, daß der Aktivierungsschritt — ein aktives glykolytisches System vorausgesetzt — vor der Enolase liegen könnte. Mit dieser Annahme kann zwar ein Teil der Goddardschen Experimente in Einklang gebracht werden, aber es bleibt die Frage unbeantwortet, warum unvorbehandelte Ascosporen nach Brenztraubensäure-Zugabe — obwohl diese in die Sporen eindringen soll — kein CO_2 bilden.

Umsetzungen, die im Anschluß an die direkte Oxydation von Hexose-Monophosphat stattfinden können, hier eine Rolle spielen, kann zur Zeit noch nicht übersehen werden[1]. Solche neben dem klassischen Glucoseabbau in den letzten Jahren bekannt gewordenen Wege benötigen zwar in der Regel zur Regeneration des bei der direkten Oxydation von Glucose-6-Phosphat entstehenden TPNH den Wasserstoffakzeptor O_2. Dieser kann jedoch, falls ein anderer Akzeptor vorhanden ist, ersetzt werden (GUNSALUS, HORECKER und WOOD 1956, AXELROD und BEEVERS 1956). So sind auch Gärungsvorgänge bekannt geworden, die in einem engen Zusammenhang mit der direkten Oxydation von Hexose-6-Phosphat stehen.

Inwieweit die Diskussion solcher Prozesse berechtigt ist, müssen weitere Versuche erweisen. Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

1. Unvorbehandelte Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus* atmen in Standard-Nährlösung mit einer anfangs gleichbleibenden Intensität $Q_{O_2} = 1{,}92 \pm 0{,}23$; in destilliertem Wasser liegt der Sauerstoffverbrauch etwa um eine Zehnerpotenz niedriger: $Q_{O_2} = 0{,}185 \pm 0{,}049$.

2. Wärmevorbehandelte Sporangiosporen atmen ebenfalls im Intervall 0—100 min nach Beimpfung mit gleichbleibender Intensität. $Q_{O_2} = 11{,}39 \pm 1{,}25$.

3. Im Anschluß an die Wärmevorbehandlung der Sporangiosporen läßt sich nach Überimpfen in Standard-Nährlösung außer der bereits erwähnten etwa 5,9fachen Atmungssteigerung ein CO_2-Ausstoß nachweisen. Dieser läßt jedoch rasch nach und ist nach etwa 65 min im wesentlichen wieder abgeklungen.

4. Bei der etwa 10fachen Atmungssteigerung, die unvorbehandelte Sporen nach Einimpfen in Standard-Nährlösung erfahren, ist kein solcher CO_2-Ausstoß zu beobachten.

5. Natriumfluorid-Zusatz zur Standard-Nährlösung hemmt je nach Konzentration die Keimung und Atmung wärmevorbehandelter Sporen in verschieden starkem Maße. Die Wirksamkeit des Inhibitors ist dabei stark p_H-abhängig; während bei p_H 4,18 die NaF-Konzentration 0,0045 mol. genügt, um eine 50%ige Keimungshemmung zu bewirken, muß bei p_H 7,50 die Konzentration 40mal größer sein, um eine gleich starke Hemmung hervorzurufen.

6. Die Veratmung von Brenztraubensäure und Ammoniumacetat wird ebenfalls durch NaF gehemmt.

---

[1] Die Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase z. B. wird nach DICKENS und GLOCK (1951) durch NaF m/100 nicht gehemmt.

7. Die NaF-Hemmung der Atmung setzt nicht sogleich in voller Stärke ein; je nach Konzentration des Inhibitors ist eine verschieden lange Induktionsphase vorgeschaltet. Außerdem ist der Wirkungsgrad der Fluoridhemmung von der Intensität des ablaufenden Stoffwechsels abhängig.

8. Der Zusatz von NaF (m/100, m/10) zur Standard-Nährlösung bewirkt bei wärmevorbehandelten Sporen eine Erhöhung des Respiratorischen Quotienten.

9. 2,4-Dinitrophenol fördert im Konzentrationsbereich $0{,}5 \times 10^{-5}$ mol. bis $2{,}2 \times 10^{-5}$ mol. die O_2-Aufnahme wärmevorbehandelter Sporen; Konzentrationen $> 2{,}2 \times 10^{-5}$ mol. rufen eine Hemmung der Atmung hervor. Die in den genannten Konzentrationsbereichen beobachtete Förderung gilt jedoch nur für den Zeitabschnitt, in dem die O_2-Aufnahme mit konstanter Rate erfolgt. Zu einem späteren Zeitpunkt (z. B. 180 min nach Versuchsbeginn) ist die Atmungsförderung durch 2,4-Dinitrophenol geringer und führt schließlich zu einer Hemmung.

10. Unter anaeroben Bedingungen produzieren wärmevorbehandelte Sporen in Standard-Nährlösung in weitaus stärkerem Maße CO_2 als unvorbehandelte Sporen.

11. Diese anaerobe CO_2-Produktion wärmevorbehandelter Sporen in Standard-Nährlösung wird durch Zusatz von NaF (m/100 bzw. m/10) in steigender Konzentration mehr und mehr gefördert.

12. 2,4-Dinitrophenol hat in der Konzentration $1{,}25 \times 10^{-5}$ mol. (stärkste Förderung der Atmung) keinen nennenswerten Einfluß auf die anaerobe CO_2-Produktion. In der Konzentration 5×10^{-5} mol. wirkt 2,4-Dinitrophenol zuerst hemmend, dann jedoch fördernd auf die anaerobe CO_2-Entwicklung. Bei noch höheren Konzentrationen (10^{-4} mol.) wird die Hemmung stärker und die nachfolgende Förderung geringer.

Die Arbeit wurde durch eine Sachbeihilfe von der Deutschen Forschungsgemeinschaft ermöglicht. An dieser Stelle möchte ich ihr meinen besonderen Dank aussprechen.

Auch Herrn Prof. Dr. F. Overbeck darf ich für sein stetes Interesse an meiner Arbeit herzlich danken.

Literatur

Axelrod, B., and H. Beevers: Mechanisms of carbohydrate breakdown in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. **7**, 267—298 (1956). — Beevers, H.: Effect of p_H on the activity of some respiratory inhibitors. Nature (Lond.) **163**, 408—409 (1949). — 2,4-Dinitrophenol and plant respiration. Amer. J. Bot. **40**, 91—96 (1953). — Beevers, H., and M. Gibbs: The direct oxidation pathway in plant respiration. Plant Physiol. **29**, 322—324 (1954). — Berke, H. L., and A. Rothstein: The metabolism of storage carbohydrates in yeast, studied with glucose-1-C^{14} and dinitrophenol. Arch. Biochem. **72**, 380—395 (1957). — Bonner, J., and A. Millerd: Oxidative phosphorylation by plant mitochondria. Arch. Biochem. **42**, 135—148 (1953). — Bonner, J., and S. G. Wildman: Enzymatic mechanisms in the respiration of spinach leaves. Arch. Biochem. **10**, 497—518 (1946). —

BONNER, W. D.: Activation of the heart-muscle succinic oxidase system. Biochem. J. **49**, viii-ix (1951). — BOREI, H.: Über die Einwirkung von Fluorid auf Cytochrom und Cytochromoxydase. Ark. Kemi, Min. Geol. A **13**, No 23, 1—12 (1939). — Inhibition of cellular oxidation by fluoride. Ark. Kemi, Min. Geol. A **20**, No 8, 1—215 (1945). — BRODY, T. M.: The uncoupling of oxidative phosphorylation as a mechanism of drug action. Pharmacol. Rev. **7**, 335—363 (1955). — CLOWES, G. H. A., and A. K. KELTCH: A non-particulate, dinitrocresol-resistant, glycolytic, phosphorylating mechanism present in malignant and certain normal tissues. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **77**, 367—377 (1951). — COCHRANE, V. W.: Physiology of fungi. New York: J. Wiley & Sons 1958. — DICKENS, F., and G. E. GLOCK: Direct oxidation of glucose-6-phosphate, 6-phospho-gluconate and pentose-5-phosphates by enzymes of animal origin. Biochem. J. **50**, 81—95 (1952). — ENDO, S.: Über die Zwischenreaktionen der Gärung von Bacterium coli. Biochem. Z. **296**, 56—70 (1938). — GODDARD, D. R.: The reversible heat activation inducing germination and increased respiration in the ascospores of *Neurospora tetrasperma*. J. gen. Physiol. **19**, 45—60 (1935). — The reversible heat activation of respiration in *Neurospora*. Symp. Quant. Biol. **7**, 362—376 (1939). — GODDARD, D. R., and P. E. SMITH: Respiratory block in the dormant spores of *Neurospora tetrasperma*. Plant Physiol. **13**, 241—264 (1938). — GUNSALUS, I. C., B. L. HORECKER and W. A. WOOD: Pathways of carbohydrate metabolism in microorganisms. Bact. Rev. **19**, 79—128 (1955). — HALBSGUTH, W., u. H. RUDOLPH: Untersuchungen über die Wärmeaktivierung der Sporangiosporen von *Phycomyces blakesleeanus*. I. Arch. Mikrobiol. **32**, 296—308 (1959). — HANDLER, P.: The effects of various inhibitors of carbohydrate metabolism, in vivo. J. biol. Chem. **161**, 53—63 (1945). — HUNTER, E.: Oxidative phosphorylation during electron transport. In: Phosphorus Metabolism (W. D. MCELROY u. B. GLASS). Baltimore: J. Hopkin Press 1951. — JAMES, W. O.: The use of respiratory inhibitors. Ann. Rev. Plant Physiol. **4**, 59—90 (1953). — KEILIN, D., and E. F. HARTREE: Cytochrome and cytochrome oxidase. Proc. roy. Soc. B **127**, 167—191 (1939). — LATIES, G. G.: Respiration and cellular work and the regulation of the respiration rate in plants. Surv. Biol. Prog. **3**, 215—299 (1957). — LOHMANN, K., u. O. MEYERHOF: Über die enzymatische Umwandlung von Phosphoglycerinsäure in Brenztraubensäure und Phosphorsäure. Biochem. Z. **273**, 60—72 (1934). — LOOMIS, W. F., and F. LIPMANN: Reversible inhibition of the coupling between phosphorylation and oxidation. J. biol. Chem. **173**, 807—808 (1948). — LOWRY, R. J., A. S. SUSSMAN and B. v. BÖVENTER-HEIDENHAIN: Physiology of the cell surface of *Neurospora* ascospores. III. Distinction between the adsorptive and entrance phases of cation uptake. Mycologia (1957). — MALM, M.: Quantitative Bestimmungen der Permeabilität der Hefezellen für Fluor. Naturwiss. **28**, 723—724 (1940). — Quantitative Bestimmungen der Permeabilität der Hefezellen für Phosphat. Naturwiss. **29**, 318—319 (1941). — MARCUSE, R., u. J. RUNNSTRÖM: Die Fluoridhemmung des Stoffwechsels der frischen und der destruierten Bäckerhefe. Ark. Kemi, Min. Geol. A **16**, No 20, 1—27 (1943). — MEYER, F. R., u. G. RONGE: Entfernen von Sauerstoff aus Gasen mittels aktiven Kupfers. Angew. Chem. **52**, 637—638 (1939). — MILLERD, A.: Respiratory oxidation of pyruvate by plant mitochondria. Arch. Biochem. **42**, 149—163 (1953). — MILLERD, A., J. BONNER, B. AXELROD and R. BANDURSKI: Oxidative and phosphorylative activity of plant mitochondria. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **37**, 855—862 (1951). — MYERS, J., and F. A. MATSEN: Kinetic characteristics of Warburg manometry. Arch. Biochem. **55**, 373—388 (1955). NEWCOMB, E. H.: Tobacco callus respiration and its response to 2,4-dinitrophenol. Amer. J. Bot. **37**, 264—271 (1950). — ROBBINS, W. J.: Growth substances in agar. Amer. J. Bot. **26**, 772—778 (1939). — Effect of extracts of *Phycomyces* upon its development. Amer. J. Bot. **27**, 559—564 (1940). — Further observations on factor Z. Bot. Gaz. **102**, 520—535 (1941). — ROBBINS, W. J., and K. C. HAMNER:

Effect of potato extracts on growth of *Phycomyces*. Bot. Gaz. **101**, 912—927 (1940). — Robbins, W. J., and F. Kavanagh: Guanine and factor Z_1, growth substances for *Phycomyces*. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **28**, 4—8 (1942). — Hypoxanthine, a growth substance for Phycomyces. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **28**, 65—69 (1942). — Robbins, W. J., V. W. Kavanagh and F. Kavanagh: Growth substances and dormancy of spores of *Phycomyces*. Bot. Gaz. **104**, 224—242 (1942). — Robbins, W. J., and M. B. Schmitt: Effect of cotton on the germination of *Phycomyces* spores. Bull. Torrey bot. Club **72**, 76—85 (1945). — Rudolph, H.: Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an den Sporangiophoren von *Phycomyces blakesleeanus*. Biol. Zbl. **77**, 385—437 (1958). — Runnström, J., H. Borei u. E. Sperber: Wo setzt die Hemmung der Hefeatmung durch Fluorid ein? Ark. Kemi, Min. Geol. A **13**, No 22, 1—29 (1939). — Runnström, J., u. K. Brandt: Über den Einfluß von Kohlenmonoxyd, Cystein, Glutathion, Jodessigsäure und Fluorid auf den Umsatz der Brenztraubensäure durch Bäckerhefe. Ark. Kemi, Min. Geol. A **15**, No 6, 1—29 (1942). — Runnström, J., R. Gurney and E. Sperber: On protection against the inhibitory action of fluoride. Protection conferred by substrate in the respiration and fermentation of bakers yeast. Enzymologia **10**, 1—39 (1941). — Runnström, J., u. E. Sperber: Zur Kenntnis der Beziehungen zwischen Permeabilität und Stoffwechsel der Hefezelle. Biochem. Z. **298**, 340—367 (1938). — Shear, C. L., and B. O. Dodge: Life histories and heterothallism of the red bread-mold fungi of the *Monilia sitophila* group. Jour. agr. Research **34**, 1019—1042 (1927). — Shirk, H. G., and H. E. Byrne: Comparative action of some dinitrophenols on fungus spore respiration. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **77**, 628—631 (1951). — Simon, E. W.: Mechanisms of dinitrophenol toxicity. Biol. Rev. **28**, 453—479 (1953). — Simon, E. W., and H. Beevers: The effect of p_H on the biological activities of weak acids and bases. I. The most usual relationship between p_H and activity. New Phytologist **51**, 163—190 (1952). — The effect of p_H on the biological activities of weak acids and bases. II. Other relationships between p_H and activity. New Phytologist **51**, 191—197 (1952). — Slater, E. C., and W. D. Bonner: Inhibition of the succinic oxidase system by fluoride. Biochem. J. **49**, 1—1i (1951). — Sommer, L., u. W. Halbsguth: Grundlegende Versuche zur Keimungsphysiologie von Pilzsporen. Forschungsberichte des Wirtschafts- und Verkehrsministeriums Nordrhein-Westfalen Nr 411 (1957). — Stotz, E., and A. B. Hastings: The components of the succinate-fumarate-enzyme system. J. biol. Chem. **118**, 479—498 (1937). — Sussman, A. S.: The effect of furfural upon the germination and respiration of ascospores of *Neurospora* tetrasperma. Amer. J. Bot. **40**, 401—404 (1953). — The effect of heterocyclic and other compounds upon the germination of ascospores of *Neurospora tetrasperma*. J. gen. Microbiol. **8**, 211—216 (1953). — Changes in the permeability of ascospores of *Neurospora tetrasperma* during germination. J. gen. Physiol. **38**, 59—77 (1954). — Sussman, A. S., B. v. Böventer-Heidenhain and R. J. Lowry: Physiology of the cell surface of *Neurospora* ascospores. IV. The functions of surface binding sites. Plant Physiol. **32**, 586—590 (1957). — Sussman, A. S., J. R. Distler and J. S. Krakow: Metabolic aspects of *Neurospora* activation and germination. Plant Physiol. **31**, 126—135 (1956). — Sussman, A. S., R. Holton and B. v. Böventer-Heidenhain: Physiology of the cell surface of *Neurospora* ascospores. Entrance of anions and non-polar compounds. Arch. Mikrobiol. **29**, 38—50 (1958). — Umbreit, W. W., R. H. Burris and J. F. Stauffer: Manometric techniques. Minneapolis: Burgess Publ. 1949. — Warburg, O., u. W. Christian: Isolierung und Kristallisation des Gärungsfermentes Enolase. Naturwiss. **29**, 590 (1941). — Isolierung und Kristallisation des Gärungsfermentes Enolase. Biochem. Z. **310**, 384—421 (1942).

Dr. H. Rudolph, Botanisches Institut der Universität
Kiel, Düsternbrooker Weg 17

Planta 54, 530—554 (1960)

Aus dem Botanischen Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule
Stuttgart-Hohenheim

ÜBER DEN LICHTKOMPENSATIONSPUNKT DER LANDPFLANZEN

I. Mitteilung

Von

HELMUT LIETH

Mit 22 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. Dezember 1959)

Einleitung und Problemstellung

Der Stoffwechsel der grünen Pflanzen wird bestimmt durch die dauernd stattfindende Atmung (CO_2-Produktion) und die nur im Licht mögliche Assimilation (CO_2-Aufnahme). Da die Assimilation mit der Lichtstärke steigt und bei optimalen Lichtverhältnissen mehr CO_2 aufgenommen wird als abgegeben, muß es eine Lichtintensität geben, bei der sich Aufnahme und Abgabe die Waage halten. Diesen Gleichgewichtszustand im pflanzlichen Gaswechsel nennen wir den Kompensationspunkt.

Der Kompensationspunkt wurde zuerst von PLÄTZER 1917 untersucht und definiert. Danach haben BOYSEN-JENSEN 1918, HARDER 1923, MÜLLER 1928, STÅLFELT 1938 u. a. die Untersuchungen fortgesetzt. In neuerer Zeit wurden die Arbeiten über den Kompensationspunkt von vielen Autoren wieder aufgegriffen, insbesondere von EGLE und SCHENK 1953a u. b, VIEBAHN 1956, LIETH 1958, PAVLETIĆ und LIETH 1958 und BRUCKER und URBACH 1958. In den neueren Arbeiten wird vor allem herausgestellt, daß der Kompensationspunkt, gemessen in Lichtstärkeeinheiten, sehr verschieden liegen kann, je nach der Kohlensäurekonzentration, bei der man mißt. In der Abb. 1 wird das veranschaulicht. Wir haben darin die Messungen von EGLE und SCHENK 1953a an *Chlorella vulgaris* und von BRUCKER und URBACH 1958 an *Chlorella pyrenoidosa* eingetragen.

An Hand dieser Abbildung sollen auch die von den genannten Autoren neu eingeführten Definitionen erläutert werden. Man sieht am Verlauf der Kurve, daß das Gaswechselgleichgewicht innerhalb gewisser Grenzen und in Abhängigkeit von der Lichtstärke bei verschiedenen CO_2-Spiegeln liegen kann. Der Kompensationspunkt ist da abhängig vom Licht und wurde deshalb von EGLE und SCHENK als Lichtkompensationspunkt bezeichnet. Man erkennt, daß die Lage des Lichtkompensationspunktes sehr variabel ist und der bisher übliche Weg, den Kompensationspunkt

beim CO_2-Gehalt der atmosphärischen Luft zu messen, nur einen Sonderfall in dieser Definition darstellt.

Der Pflanze ist es nicht möglich, alles CO_2 aus der Atmosphäre zu entnehmen. Es bleibt stets ein Rest, der durch noch so hohe Steigerung der Lichtintensität nicht mehr assimiliert werden kann. Hier hängt der Kompensationspunkt von der CO_2-Konzentration ab und wird daher als CO_2-Kompensationspunkt bezeichnet. Die Tatsache an sich ist schon lange bekannt und wurde von BOYSEN-JENSEN 1932 beschrieben. Er führte dafür den Begriff „Restkohlensäure" ein, erkannte aber nicht deren Verbindung als Endglied in der Kette von Gaswechselgleichgewichten.

BRUCKER und URBACH schließen aus ihren Versuchen auch auf eine untere Lichtgrenze für die Gleichgewichte CO_2/O_2 und bezeichnen das als Grenzkompensationspunkt. Wenn die Lichtintensität soweit sinkt, daß sich ein Gleichgewicht oberhalb von 0,1 Vol-% CO_2 einstellen müßte, dann soll sich keines mehr einstellen. Diese Angabe muß jedoch nachgeprüft werden, da die Autoren nur bis 0,2 Vol-% CO_2 gemessen haben; denn aus dem Kurvenbild der Abb. 1 geht hervor, daß in diesem Bereich sehr kleine Lichtänderungen große Sprünge in der Lage des Gleichgewichtes zur Folge haben müssen.

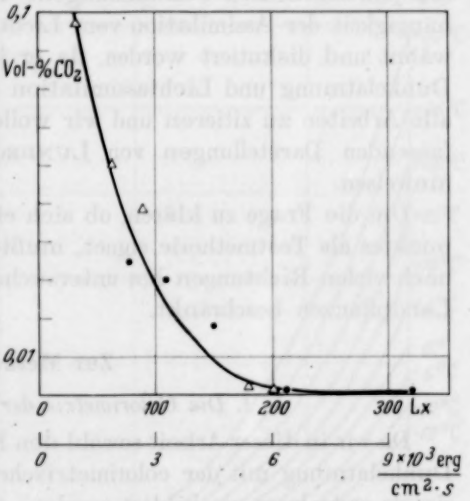


Abb. 1. Die Lage des Kompensationspunktes in Abhängigkeit von Lichtstärke und CO_2-Konzentration. Gezeichnet nach Messungen von EGLE und SCHENK an *Chlorella vulgaris* (•), Abszisse in Lux und nach Angaben von BRUCKER und URBACH über *Chlorella pyrenoidosa* (△), Abszisse in erg/cm²·s; Ordinate für beide Vol-% CO_2. Das Skalenverhältnis auf der Abszisse wurde nach der Lage des CO_2-Kompensationspunktes bestimmt. Weitere Erläuterungen im Text

Es sei bereits hier darauf hingewiesen, daß wir in dieser Arbeit nur den Lichtkompensationspunkt untersucht haben; in der Regel beim natürlichen Kohlensäuregehalt der Luft, so daß wir alle vorausgegangenen Arbeiten über den Kompensationspunkt mit unseren vergleichen können.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß sich der Lichtkompensationspunkt mit der colorimetrischen CO_2-Bestimmungsmethode nach KAUKO 1934 (LIETH 1958) einfach und exakt bestimmen läßt, haben wir in der vorliegenden Arbeit geprüft, ob sich der Kompensationspunkt als Kriterium für die Leistungsfähigkeit des pflanzlichen Stoffwechsels eignet. Ihrer Einfachheit wegen wäre eine Kompensationspunktsmessung als Testmethode bei ökologischen, physiologischen und besonders auch bei speziellen Problemen der Pflanzenernährung und des Pflanzenbaues sehr geeignet. Die Meinungen über den Wert solcher Bestimmungen sind in der Literatur aber recht unterschiedlich.

BOYSEN-JENSEN 1932 führt den Kompensationspunkt als ein Charakteristikum der Lichtassimilationskurven an. PLÄTZER 1917 und MÜLLER 1928 hatten vorher schon auf die Temperaturabhängigkeit des Kompensationspunktes hingewiesen. HARDER 1923 wies auf die Variabilität je nach den Lichtverhältnissen, unter denen die Versuchspflanzen wachsen, hin und VIEBAHN 1956 sowie PAVLETIĆ und LIETH 1958 auf die jahreszeitlichen Schwankungen. In vielen Arbeiten über die Abhängigkeit der Assimilation vom Licht ist der Kompensationspunkt erwähnt und diskutiert worden, da er ja stets in den Kurven zwischen Dunkelatmung und Lichtassimilation auftritt. Es ist aber unmöglich, alle Arbeiten zu zitieren und wir wollen daher nur auf die zusammenfassenden Darstellungen von LUNDEGÅRDH 1949 und WALTER 1951 hinweisen.

Um die Frage zu klären, ob sich eine Messung des Kompensationspunktes als Testmethode eignet, mußten wir den Kompensationspunkt nach vielen Richtungen hin untersuchen. Wir haben uns dabei auf die Landpflanzen beschränkt.

Zur Methode[1]

1. Die Colorimetrie der Luftkohlensäure

Da wir in dieser Arbeit sowohl den Kompensationspunkt als auch die Dunkelatmung mit der colorimetrischen Methode gemessen haben, soll sie als erste kurz geschildert werden. Geschichte und Entwicklung der Methode sind bei LIETH 1958 beschrieben worden. Wir wollen daher hier nur die Methode selbst schildern und zwar so, wie man sie für quantitative Bestimmungen braucht. Für eine CO_2-Messung benötigt man: a) die Reaktionslösung, b) Vergleichslösungen und c) die Berechnungsformel.

a) Die Reaktionslösung besteht aus einer wäßrigen Lösung von 0,001 n $NaHCO_3$ = 84 mg/Liter, 0,099 n KCL = 7,46 g/Liter und wenig Kresolrot = 10 mg/Liter. Diese Lösung hat die Eigenschaft, sich mit dem CO_2-Gehalt der darüberstehenden Luft ins Gleichgewicht zu setzen. Dabei verändert sich der p_H-Wert der Lösung, und je nach dem Gehalt der Luft an CO_2 färbt sich das Kresolrot gelb (= schwach sauer bis

[1] An dieser Stelle möchte ich allen, die mir bei der Durchführung der Arbeiten geholfen haben, meinen Dank aussprechen. Herr Dr. Z. PAVLETIĆ und Herr cand. rer. nat. M. VOGT haben mir bei vielen Versuchen geholfen. Herr Elektromeister F. Saile war mir beim Aufbau einiger Versuchsanordnungen behilflich. Besonders aber bin ich Herrn Prof. WALTER zu Dank verpflichtet für seine ständige Förderung meiner Arbeiten und für viele Diskussionen über die immer wieder auftretenden Schwierigkeiten. Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danke ich für mehrere Sachbeihilfen. Die verwendeten Gewächshauspflanzen wurden von Herrn Gartenmeister Hasenbalg und Herrn Debbert herangezogen und gepflegt. Ihnen sei dafür auch an dieser Stelle herzlich gedankt.

neutral = hoher CO_2-Gehalt der Luft) bis purpurfarben (= basisch = niedriger CO_2-Spiegel).

b) Um den p_H-Wert ablesen zu können, benötigen wir eine geeichte Farbskala des Kresolrots. Diese stellen wir uns mit Hilfe einer Pufferserie her, die etwa den Bereich von p_H 6,5—8,2 umfassen muß. Es gibt mehrere Puffer, die sich hierfür eignen; vgl. dazu KOLTHOFF 1932 und STEINER 1939. Die beiden Stammlösungen für den gut geeigneten Phosphatpuffer nach SÖRENSEN lassen sich leicht aus den von der Firma Merck erhältlichen Puffertitrisolen ansetzen. Wenn man den Stammlösungen 10 mg Kresolrot je Liter zusetzt, dann hat man nach dem Mischen eine vollkommen gleichmäßige Farbintensität in allen Pufferstufen. Je nach Art der Colorimetrie benötigt man von jeder Stufe 2—20 cm³ Flüssigkeit. Wir haben die Stufen im Abstand von 0,05 p_H-Einheiten eingestellt und die Einstellung mit einem p_H-Meter überprüft. Die Farbunterschiede von Stufe zu Stufe konnten wir auch bei ungünstigem Licht noch gut ansprechen.

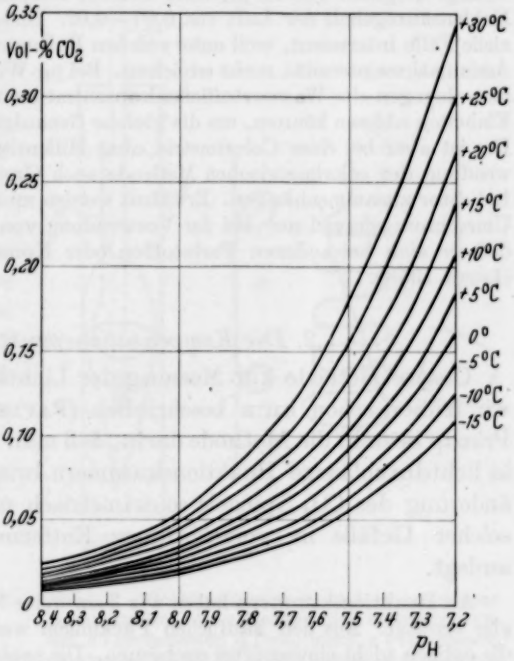


Abb. 2. Die p_H-Werte der Reaktionslösung (Abszisse) und der entsprechende CO_2-Gehalt der Luft (Ordinate) bei verschiedenen Temperaturen

c) Für die Kalkulation den CO_2-Spannung in der überstehenden Luft benötigt man unter den von LANGE 1956, LIETH 1958 und hier beschriebenen Versuchsbedingungen die Umrechnungsformel

$$1{,}02 \times \log P = a - p_H.$$

Darin bedeuten P den CO_2-Druck in atm und a eine temperaturabhängige Konstante. Mit Hilfe dieser Formel haben wir in einem weiten Temperaturbereich von 5 zu 5° die Kohlensäure in Vol-% errechnet, die zu jeder p_H-Stufe gehört. Die Umrechnungswerte sind in Abb. 2 als Kurvenschar abgebildet. Aus den dort ablesbaren Volumenprozenten kann man von einem bekannten Luftvolumen die Kohlensäure in mg bestimmen. Wenn man die CO_2-Änderung eines festen Luftvolumens messen will,

dann muß man unter Umständen den wechselnden Gehalt des CO_2 in der Lösung berücksichtigen (LANGE 1953). Dies ist jedoch nur bei einem ungünstigen Verhältnis von Luft zu Lösung notwendig.

Der Anwendungsbereich der Methode ist dem Augenschein nach in erster Linie durch den Umschlagsbereich des Indicators begrenzt. Aus diesem Grunde haben ČATSKI 1958 und ČATSKI und SLAVIK 1958 versucht, durch eine Mischung mehrerer Indicatorfarbstoffe eine breitere pH-Amplitude zu erfassen. Das ist jedoch nur bedingt möglich. Einem pH-Wert von 8,4 entspricht je nach der Temperatur ein Kohlensäuregehalt der Luft von 0,01—0,02. Dieser Bereich ist nur noch für spezielle Fälle interessant, weil unter solchen Bedingungen die Pflanzen keine normale Assimilationsintensität mehr erreichen. Bei pH-Werten in der Nähe von 6,0 müßte man dagegen die Wasserstoffionenkonzentration mit einer Genauigkeit von 0,01 Einheiten ablesen können, um die gleiche Genauigkeit zu erreichen, wie bei pH 8,2. Das ist aber bei einer Colorimetrie ohne Hilfsmittel unmöglich. So sind der Anwendung der colorimetrischen Methode auch Grenzen gesetzt, die nicht mit dem Indicator zusammenhängen. Erwähnt werden muß noch, daß die oben angeführte Umrechnungsformel nur bei der Verwendung von Kresolrot 10 mg/Liter gilt und daß sie sich bei anderen Farbstoffen oder Konzentrationen stark ändern kann (LIETH 1958).

2. Die Kompensationspunktsmessungen

Unsere Methode zur Messung der Lichtkompensationspunkte haben wir früher schon kurz beschrieben (PAVLETIĆ und LIETH 1958). Im Prinzip besteht die Methode darin, daß man Blätter einer Pflanze einzeln in lichtdurchlässige Reaktionskammern bringt, in denen man eine Veränderung des CO_2-Spiegels colorimetrisch messen kann und eine Reihe solcher Gefäße in verschiedener Entfernung von einer Lichtquelle auslegt.

Als Reaktionskammern haben wir 3 cm weite Norm-Reagenzgläser aus Geräteglas benützt. Aus den käuflichen Packungen wurden alle diejenigen ausgelesen, die optisch nicht einwandfrei erschienen. Die sauber geputzten Gläser prüften wir dann mit einem kleinen Luxmeter auf ihre Lichtdurchlässigkeit. Sie betrug 95—98% des meßbaren Lichtes. Die Unterschiede der einzelnen Gläser lagen innerhalb der Fehlergrenze des Meßinstrumentes.

Zum Verschließen der Gläser wählten wir einen halbweichen Gummistopfen aus, der sich gut in das Glas eindrücken ließ und dadurch einen luftdichten Abschluß gewährleistete. Die Gummistopfen wurden mit einem engen Loch versehen, durch das ein Stabthermometer gerade mit Gewalt hindurchgepreßt werden konnte. Zuletzt steckten wir in die gefäßseitige Fläche eines jeden Stopfens einen Drahtbügel aus Aluminium- oder verzinktem Eisendraht, der je nach dem Zweck verschieden geformt wurde. Die vollständige Anlage eines Reaktionsglases und die geeignetsten Bügelformen sind in Abb. 3 dargestellt.

Jedes Gefäß erhielt etwa 2 cm^3 Reaktionsflüssigkeit. Diese kann mehrmals verwendet werden, sie muß nur vor jedem Versuch mit der gewünschten CO_2-Konzentration der Luft — bei der der Lichtkompensationspunkt gemessen werden soll — ins Gleichgewicht gesetzt werden. Man erreicht das leicht, indem man die Gefäße 1—2 Std in der Luft mit entsprechendem Kohlensäuregehalt stehen läßt. Wir haben die Lösungen je nach der Anzahl Versuche pro Tag alle 2—14 Tage erneuert.

Nach dem Äquilibrieren der Versuchskammern haben wir die Farbe der Reaktionslösung in jedem Glas verglichen und den p_H-Wert mit Hilfe der Pufferserie bestimmt. Dadurch konnten wir stets kontrollieren, bei welcher CO_2-Konzentration der Luft der Lichtkompensationspunkt bestimmt wurde. Wie bereits in der Einleitung beschrieben wurde, ist das unbedingt notwendig.

Je 7—9 Reaktionsgefäße wurden für einen Versuch gebraucht. Eines davon wurde zu Beginn des Versuches verschlossen, um die Kompensationspunktfarbe zu bewahren. Die anderen Gefäße wurden mit Assimilationsorganen der zu untersuchenden Pflanzen beschickt. Dabei blies ein schnellaufender Ventilator die eigene Atemluft von den Versuchsgefäßen fort.

Die Pflanzenteile klemmten wir in die an den Stopfen befestigten Drahtbügel. Die Stopfen setzten wir dann fest auf die Glasröhrchen. Durch Zurechtbiegen der Drahtklammern oder durch leichtes Verkanten und Drehen der Stopfen konnten wir die Blätter in die beste Lage innerhalb der Gläser bringen.

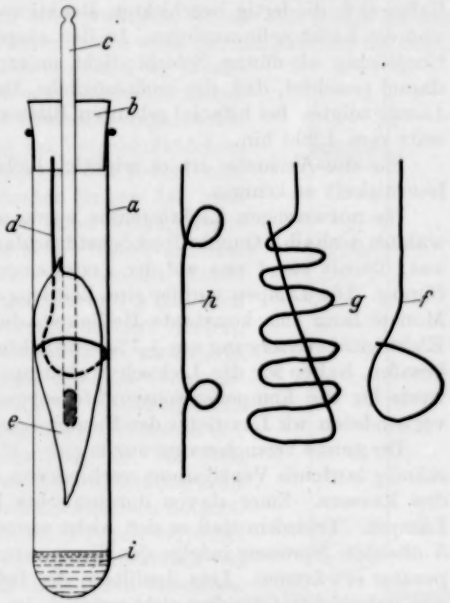


Abb. 3. Reaktionskammer und verschiedene Drahtbügelformen. *a* Reagenzglas, *b* Gummistopfen, *c* Thermometer, *d* Drahtbügel, *e* Pflanzenteil, *f* einfacher Bügel für steife Blätter, *g* Schlangenbügel mit Rückdraht für weiche Blätter, *h* Doppelbügel für Gräser, *i* Reaktionslösung

Die meisten untersuchten Pflanzen hatten so große Assimilationsorgane, daß diese nicht in die Gläser gebracht werden konnten. Je nach Größe verwendeten wir kleinere Sproßteile (z. B. bei Koniferen und Kakteen), mehrere Blätter *(Melaleuca, Buxus)*, ganze Blätter *(Nerium, Ardisia)* oder Blattsegmente. Letzteres war der häufigste Fall. Die großen Blätter *(Ficus, Monstera, Musa)* wurden entlang den Haupt- oder Seitennerven 1. Ordnung zerschnitten. Wenn das nicht möglich war, dann haben wir die Blätter so zerteilt, daß eine möglichst kleine Schnittfläche entstand. Auf die dabei auftretende Wundatmung und ihre Bedeutung für die Lichtkompensationsmessung wird im Kapitel „Versuche zur Methodenprüfung" näher eingegangen.

Die Versuche wurden in einem 6×4 m großen, hell gestrichenen Kellerraum durchgeführt. Dessen einziges Fenster an einer Schmalseite in der Nähe der Decke ermöglichte eine gute Durchlüftung des Raumes. Eine Lichtfalle vor dem Fenster verhinderte das Eindringen von Tageslicht. In der Nähe des Fensters installierten

wir unter der Decke als Lichtquelle 2 Quecksilberhöchstdrucklampen. Durch die ganze Länge des Raumes bauten wir eine schräg stehende Leiter auf, die bei einer Neigung von etwa 30° 50 cm unter den Lampen begann und an der gegenüberliegenden Schmalseite am Boden endete. Die Leiter bestand aus einem fest montierten, etwa 6 m langen Tragbrett, auf dem ein 4m langes und 40 cm breites Lattengitter je nach Bedarf auf und ab geschoben werden konnte. Zur Herstellung des Gitters legten wir 4 dünne Holme im Abstand von 10—15 cm parallel nebeneinander aus und nagelten darauf alle 10 cm eine Sprosse. Mit dieser Vorrichtung ließen sich die fertig beschickten Reaktionsgefäße leicht in beliebigen Abständen von der Lichtquelle auslegen. In den ausgelegten Gläsern befand sich die Reaktionslösung als dünne Schicht dicht unter den Assimilationsorganen. Es wurde darauf geachtet, daß die größtmögliche Assimilationsfläche in Richtung auf die Lampe zeigte. Bei bifacial gebauten Blättern legten wir die morphologische Oberseite zum Licht hin.

Für die Versuche ist es wichtig, Lichtverhältnisse, Temperatur und Luftfeuchtigkeit zu kennen.

Die notwendigen Lichtbereiche waren in Vorversuchen geklärt worden. Wir wählten deshalb 2 Quecksilberhöchstdrucklampen (Fa. Radium) von 250 und 400 W aus. Damit stand uns auf der Leiter eine Lichtspanne von 50—3200 lx zur Verfügung. Die Lampen wurden eine Zeit lang eingebrannt und zeigten dann mehrere Monate lang eine konstante Helligkeit, die entsprechend den Bedingungen der Elektrizitätsversorgung um $\pm 7\%$ schwankte. Da wir keinen Spannungsstabilisator besaßen, haben wir die Lichtschwankungen registrierend gemessen und die Lichtwerte für die Kompensationspunkte entsprechend korrigiert. Zur Lichtmessung verwendeten wir Luxmeter der Firmen Lange und Gossen.

Der ganze Versuchsraum wurde auf $\pm 1^0$ C temperaturkonstant gehalten. Zwei ständig laufende Ventilatoren verhinderten eine Temperaturschichtung innerhalb des Raumes. Einer davon durchmischte besonders die Luft in der Nähe der Lampen. Trotzdem ließ es sich nicht vermeiden, daß sich die Röhrchen auf den 5 obersten Sprossen infolge der Temperaturstrahlung um 1—2° über Raumtemperatur erwärmten. Das Ausfiltern der Infrarotstrahlung war im Versuchsraum aus technischen Gründen nicht möglich, im übrigen aber auch für die Kompensationspunktsmessungen nicht notwendig.

Während aller Versuche haben wir die relative Luftfeuchtigkeit im ganzen Raum auf über 90% gehalten. Da wir in einem Kellerraum arbeiteten, ließ sich das leicht erreichen.

3. Die Atmungsmessungen

Da der Lichtkompensationspunkt sowohl von der Assimilation als auch von der Atmung bestimmt wird, ist es wertvoll, parallel zur Lichtkompensation die Dunkelatmung zu bestimmen. Wir haben das auch in den meisten Fällen getan und dabei ebenfalls die colorimetrische Methode benützt. Zwar gibt es einfachere und genauere Methoden zur Atmungsmessung, wir haben uns aber doch dazu entschlossen, die colorimetrische CO_2-Bestimmung anzuwenden. Einmal wollten wir auch auf diesem Anwendungsgebiet der Methode Erfahrungen sammeln und zum anderen mußten wir in vielen Fällen sparsam mit dem Versuchsmaterial umgehen. In den Fällen, wo nur wenig Pflanzenmaterial zur Verfügung steht, ist die Methode, so wie wir sie angewendet haben, den anderen gegenüber durch ihre hohe Empfindlichkeit im Vorteil.

Die Methode ist bei LANGE 1953 beschrieben. Wir haben jedoch entsprechend unseren Bedingungen einige Änderungen vorgenommen. Wir müssen sie daher kurz beschreiben.

Als Atmungsgefäße haben wir wieder die 3 cm weiten Reagenzgläser benützt. Diese wurden vom Glasbläser im mittleren Teil von 2 Seiten her eingedrückt, von uns kalibriert und das Volumen von 110 cm³ außen mit einem Streifen Tesafilm markiert. Als Verschluß dienten sog. „Saftflaschenhütchen" aus Gummi, wie sie im Handel erhältlich sind. Diese sind sehr praktisch, da sie sich leicht bis zur Markierung in das Glasrohr einsenken lassen, auch wenn die Marke recht tief liegt, aber trotzdem gut dichten. In jedes Glas wurden 4 cm³ Reaktionslösung einpipettiert und darauf ein passendes Stück Sarannetz bis an die Vorsprünge in der Glaswand eingedrückt. Das Sarannetz, eine Mittelverstärkung am Verschlußhütchen und die Reaktionslösung engten den Luftraum auf 104 cm³ ein.

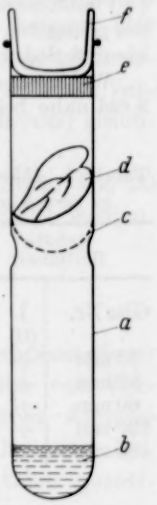


Abb. 4. Schema eines Atmungsgefäßes. *a* Glas, *b* Lösung, *c* Sarannetz, *d* Pflanze, *e* Volumenmarke, *f* Saftkütchen als Verschluß

Vor jedem Versuch blieben die Röhrchen längere Zeit zum Äquilibrieren offen stehen. Zu Beginn einer Versuchsserie wurden die Pflanzen frisch gewogen, in die Gläser auf das Sarannetz gebracht und jedes Glas sofort verschlossen. Nachdem wir den p_H-Wert der Lösung abgelesen und zusammen mit der Verschlußzeit und der Temperatur notiert hatten, kamen die Gläser in den dunklen Thermostaten zurück, in dem sie vor Versuchsbeginn zum Angleichen an die Versuchstemperatur aufbewahrt worden waren. Nach 1—2 Std konnten wir die Versuche schon beenden, da sonst die p_H-Werte so tief sanken, daß wir sie nicht mehr ablesen konnten. Vor dem Ablesen wurden die Gefäße 15—30 sec lang geschüttelt, der p_H-Wert gemessen und mit der Ablesezeit zusammen notiert. Anschließend legten wir die Pflanzenproben in Papier verpackt zur Trockengewichtsbestimmung in einen Thermostaten bei 105° C zum Trocknen. Nach Abschluß eines jeden Versuches waren folgende Daten notiert: Temperatur, Frischgewicht, Trockengewicht, p_H-Werte und Uhrzeit zu Beginn und am Ende. Damit errechneten wir: aus 104—Frischgewicht der Pflanzenteile den Luftraum, aus der p_H-Differenz bei bekannter Temperatur die Zunahme der Kohlensäure und aus beiden zusammen die mg CO_2; zusammen mit Zeitdifferenz und Trockengewicht konnten wir die Dunkelatmungsrate in mg $CO_2/g_{TG} \times$ Std ausrechnen. Bei der Berechnung mußten wir beachten, daß die 4 cm³ Reaktionslösung einen beträchtlichen Anteil der neuentstehenden Kohlensäure binden. In unserer Versuchsanordnung waren das bei 20° C etwa 15%, bei 5° C nahezu 30%.

4. Beurteilung der beschriebenen Methoden, Genauigkeit, Arbeitsaufwand und Zeitbedarf

Die Ablesegenauigkeit lag bei der Colorimetrie unter unseren Versuchsbedingungen wie bereits gesagt etwa bei 0,05 p_H-Einheiten. Aus Abb. 2, S. 533 läßt sich entnehmen, daß sich der CO_2-Gehalt der atmosphärischen Luft, wie wir sie in der Regel für die Bestimmung des Lichtkompensationspunktes verwendet haben, sehr genau messen läßt. Der Kompensationspunkt läßt sich auch deshalb noch besonders genau

bestimmen, weil dabei nicht ein bestimmter Farbton, sondern die Veränderung einer Farbe im Laufe der Zeit angesprochen wird (z. B. rotviolett nach purpur oder gelborange hin). Man hat deshalb die Möglichkeit durch Verlängerung der Versuchszeiten die Ergebnisse sicherer zu machen. Dazu ein Beispiel.

Wir legten 8 Röhrchen mit *Nerium oleander* in verschiedener Entfernung von der Lichtquelle in Abständen von 40 cm aus. Zu Beginn hatten alle Röhrchen Kompensationspunktfarbe (0). $^1/_4$ Std später konnten wir bereits an dem Glas, das der Lampe am nächsten lag, das Umschlagen zur Assimilationsfarbe purpur (+) feststellen. Nach $^1/_2$ Std hatten bereits 2 Gläser + Farbe und das Glas mit der geringsten Beleuchtungsstärke zeigte Atmungsfarbe (—). Der weitere Verlauf bis zu 3 Std kann aus der folgenden Tabelle entnommen werden.

Wie man aus dem Beispiel sieht, hatte sich der Kompensationspunkt nach 3 Std nahe bei Glas 4, zwischen 3 und 4 eingestellt. Glas 3 erhielt 620 lx, Glas 4 470 lx. Der Lichtkompensationspunkt ist also bei 500 lx anzunehmen. Eine größere Ablesegenauigkeit anzustreben hat keinen Sinn mehr, denn innerhalb der Lichtgrenzen von Glas 3 und 4 liegt die Streubreite von *Nerium*. Mehrere Wiederholungen zeigten Kompensationspunkte zwischen 470 und 600 lx. Die gleichen Verhältnisse fanden wir bei mehreren anderen Pflanzenarten, die wir ebenfalls derart beobachteten. Wir haben deshalb bei den meisten Versuchen die Gläser 40 cm weit auseinandergelegt. Rückblickend auf einige Tausend Kompensationspunktsbestimmungen können wir sagen, daß wir im einzelnen Versuch diesen auf 10% (des Lichtwertes) genau angeben können; wenn wir jedoch die Streuung des Versuchsmaterials berücksichtigen, wächst die Streubreite auf 25—30%. Wir haben daher bei der Klassifizierung größerer Versuchsserien als Vorbereitung zur statistischen Bearbeitung im χ^2-Test die Lichtkompensationspunkte geometrisch abgestuft nach der Reihe: x, 2x, 4x, 8x. . . . .

Tabelle 1. *Ablesbarkeit des Lichtkompensationspunktes zu verschiedenen Zeiten nach Versuchsbeginn*

	Größte Helligkeit							Geringste Helligkeit	
Glas Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	
	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	(0)	Anfang
15 min	+	0	0	0	0	0	0	0	
30 min	+	+	0	0	0	0	0	—	
60 min	+	+	+	0	0	—	—	—	
120 min	+	+	+	0	0	—	—	—	
180 min	+	+	+	0	—	—	—	—	

Die Zeit, in der sich der Kompensationspunkt hinreichend genau einstellte, war je nach Pflanzenart und Versuchstemperatur sehr verschieden. Er schwankte in unseren Versuchen zwischen 30 min und 3 Std.

Im Gegensatz zu den Lichtkompensationspunkten lassen sich die Atmungswerte mit der colorimetrischen Methode nicht so genau bestimmen. Dadurch, daß man eine gewisse Zeit lang die Pflanzen atmen lassen muß, steigt der CO_2-Gehalt der Luft im Versuchsgefäß auf 0,1 bis 0,3 Vol-% an. In diesem Bereich können die Meßfehler bis zu 20% ansteigen. Man kann jedoch bei längerer Erfahrung die Versuchszeit oder die Menge Versuchsmaterial so wählen, daß der CO_2-Umsatz möglichst günstig liegt. Es ist aber aus vielen Atmungsmessungen unter ökologischen Bedingungen bekannt, daß es Pflanzen gibt, bei denen die Atmungsraten von 2 gleich aussehenden Blättern um 50—100% diffe-

rieren können. Daß das aber von Pflanze zu Pflanze verschieden ist, geht aus einem später näher beschriebenen Versuch hervor, in dem 385 verschiedene Pflanzenarten je in 3facher Wiederholung auf ihre Dunkelatmung hin untersucht wurden. Im Mittel aus allen Versuchen ergab sich eine Streuung von $\pm 14{,}3\,\%$, wenn der jeweilige Mittelwert gleich 100% gesetzt wurde; in extremen Fällen streuten die Werte bis zu 40% vom errechneten Mittelwert, in sehr vielen Versuchen nur zu 5%. Die wesentlichste Fehlerquelle der Methode liegt eben darin, daß man im einzelnen Versuch nur wenig Pflanzenmaterial prüfen kann und deren unterschiedliches Verhalten eine große Streuung mit sich bringt. Der unbestreitbare Vorteil der Methode, nur wenig Pflanzenmenge zu brauchen, läßt sich daher nur dann auswerten, wenn feststeht, daß das Versuchsmaterial (etwa die Blätter einer Pflanze oder Teile davon) gleichmäßig atmet.

Der Zeitbedarf für die Atmungsbestimmungen einer Serie von 20 Arten in 3facher Wiederholung kann auf 4 Std herabgedrückt werden.

Versuchsergebnisse

1. Einige Vorversuche zur Methodenprüfung

Um zu erkennen, was bei der Bestimmung des Lichtkompensationspunktes alles beachtet werden muß, haben wir eine Reihe von Vorversuchen durchgeführt. Beim Studium der Literatur über Atmung und Assimilation ließen sich nämlich eine Reihe von Fakten herausfinden, die man eventuell beachten mußte und deren Einflüsse daher quantitativ zu prüfen waren.

Wir arbeiteten stets mit abgeschnittenen oder zerschnittenen Blättern. Dadurch kamen verschiedene Fehlerquellen in Frage, sei es durch Welken (Iljin 1923a und b, 1935), durch Stomatabewegung (Iljin 1933, Stälfelt 1935) oder durch Wundatmung (Nikolai 1929, Drawert 1937, Zusammenfassung bei Bünning 1937 und 1948). Zwar ist nach den Erfahrungen von Stocker 1929, 1935, Bauer 1935 und Larsen 1942 die Verwendung von abgeschnittenen Pflanzenteilen unbedenklich, wir haben aber im Hinblick auf die ständig wieder erhobenen Einwände nochmals alle möglichen Fehlerquellen nachgeprüft; dies insbesondere im Hinblick auf die Verhältnisse bei der Bestimmung des Kompensationspunktes.

Den Lichtkompensationspunkt beeinflussen auf dem Wege über Atmung und Assimilation vielerlei plasmatische Faktoren, z. B. Chlorophyllgehalt und Fermentsysteme. Rhythmische Änderungen in der Zeit, z. B. tagesperiodische Schwankungen (Zusammenfassung bei Bünning 1956a und b, Pirson und Schön 1956/57), kurzfristige Änderungen im Chlorophyllgehalt nach Bukatsch 1939, Wendel 1957, Sironval 1953 und Gjubbenet und Bazanova 1955, die allerdings von Seybold 1942 und Bauer 1958 bezweifelt werden, könnten die Lage des Kompensationspunktes beeinflussen. Ebenso wäre es möglich, daß allgemeine tageszeitliche Unterschiede in der photosynthetischen Leistung der Pflanze (Kostytschew, Bazyrina und Tschesnokov 1928, Boysen-Jensen und Müller 1929) in der Lage des Kompensationspunktes ihren Niederschlag finden. Auch längerfristige Veränderungen im O_2-Verbrauch der Pflanzen (Bowen, Freeland und Ralph 1955) und ätherische Öle (Höhn und Elfert 1957), die durch das Zerschneiden ölhaltiger

Blätter freigesetzt werden, sowie eine unterschiedliche Vorbehandlung der Pflanzen (WOLF 1958, HARDER 1923) ließen sich als Fehlerquellen denken.

Bei vielen der angeführten Fakten wäre es an sich wünschenswert, wenn sie die Lage des Kompensationspunktes beeinflussen würden, weil wir dadurch für sie eine weitere Testmethode gewinnen könnten. Jedoch müssen wir vor der Untersuchung eines Faktors die Wirkung aller anderen kennen. Wir haben daher im einzelnen untersucht:

a) den Einfluß des Welkens und den Wasserverlust der Blattstücke während der Versuche,

b) den Einfluß der Spaltöffnungen,

c) die Wirkung des Beschneidens der Blätter,

d) die Konstanz des Kompensationspunktes über längere Zeiten,

e) die Lage des Kompensationspunktes zu verschiedenen Tageszeiten,

f) die Bedeutung von Epiphyllen und der Behaarung der Blätter,

g) die Vergleichbarkeit morphologisch verschieden gebauter Assimilationsorgane.

a) Bei einer Anzahl von Versuchen hatten wir bemerkt, daß welkende Blätter mehr Licht für die Kompensation der Atmungskohlensäure benötigten als frische. Um eine Vorstellung darüber zu bekommen, wie stark sich der Kompensationspunkt beim Welken ändern kann, hat VOGT (1959) mehrere Messungen an *Solanum tuberosum* durchgeführt und dabei festgestellt, daß Pflanzen, die 2 Std lang bei Zimmertemperatur welkten bzw. 6% ihres Wassergehaltes verloren, ihren Kompensationspunkt von 1000 auf 1700 lx, also um 70% erhöhten.

Bei dem großen Einfluß, den der Wasserverlust auf den Kompensationspunkt hat, war es notwendig, daß wir überprüften, wieviel Wasser die Blätter während eines Versuches abgaben. Da wir von vornherein unsere Versuchsanordnung darauf abgestellt hatten, einen Wasserverlust der zu prüfenden Pflanzen zu verhindern, war es zu erwarten, daß dieser sehr gering sein müßte. Wir haben eine Reihe von Versuchspflanzen vor und nach dem Versuch gewogen, dabei stellten wir fest, daß Hartlaubpflanzen keine wägbaren Mengen an Wasser abgaben, Weichlaubblätter nur wenige Milligramm und die sehr wasserreichen succulenten Blätter ebenfalls kein Wasser verloren. In keinem Falle ergaben sich eindeutige Unterschiede, so daß wir auf eine Wiedergabe der Versuche im einzelnen verzichten können. Das Ergebnis überraschte uns nicht, da die Möglichkeit zu transpirieren für die Versuchspflanzen sehr gering war. Die Blätter wurden sofort nach dem Abschneiden zwischen feuchte Tücher gepackt und in einem geschlossenen Gefäß in den Versuchsraum gebracht. Hier brachten wir sie bei einer relativen Luftfeuchte von etwa 98% in die Reaktionskammern, worin sie sich dann während 2 Std dicht über einer Wasserfläche in einem abgeschlossenen Luftraum von etwas mehr als 100 cm^3 befanden.

b) Auf die Fehler, die bei Assimilationsmessungen durch unkontrollierte Spaltöffnungsbewegungen entstehen können, weisen alle Autoren hin, die darüber gearbeitet haben. In dieser Hinsicht ist unsere Methode, wie überhaupt jede Bestimmung des Kompensationspunktes unbeeinflußt. Hierin liegt einer der besonderen Vorzüge der Kompensationsbestimmungen. Der Kompensationspunkt ist ja da, wo die gesamte Atmungskohlensäure reassimiliert wird. Dieser Vorgang spielt sich bereits im Intercellularraum ab und die Spaltenbewegung beeinflußt lediglich die Diffusionsgeschwindigkeit zur Umgebung des Blattes und damit die Zeit, in der man den Kompensationspunkt messen kann. Kurzzeitig verdunkelte Blätter, die ihre Spalten bereits geschlossen haben, brauchen etwas länger, bis man bei ihnen Atmungs- oder Assimilationstendenz auf den einzelnen Lichtstufen feststellen kann.

c) Das Beschneiden der Blätter läßt außer der im Abschnitt a) beschriebenen Gefahr des Verwelkens zwei weitere Einflüsse erwarten. Das Verletzen könnte eine erhöhte Wundatmung verursachen und das Anschneiden der Öldrüsen in den Blättern läßt die Konzentration in den Reaktionskammern an ätherischen Ölen stärker ansteigen als das bei unbeschädigten Blättern der Fall ist. Letzteres ist nach den Untersuchungen von Höhn und Elfert 1957 von Einfluß auf das Wachstum der Pflanze. Ob das nur auf dem Wege über die Transpiration geht oder auch direkt über den Stoffwechsel der Pflanze, ist noch nicht näher untersucht. Um dieser Fehlerquelle aus dem Wege zu gehen, haben wir die Arten aus unseren Untersuchungen ausgeschlossen, die erst nach dem Zerschneiden der Blätter stark nach ätherischen Ölen zu riechen begannen. Die Gefäße, in denen ölhaltige Blätter geprüft worden waren, haben wir vor ihrer Wiederverwendung erst sorgfältig gereinigt und gelüftet.

Eine Reihe von Vorversuchen haben wir über den möglichen Einfluß der Wundatmung angestellt, und zwar an Blättern von *Nerium oleander*, *Ardisia humilis*, *Rhoicissus rhomboidea*, *Hedera helix*, *Buxus sempervirens*, *Robinia pseudacacia*, *Ranunculus ficaria* sowie einigen Gräsern und anderen Arten, deren Blätter wir ganz und zerschnitten in den Reaktionskammern prüfen konnten. Die Versuche haben folgendes ergeben: Das Halbieren der Blätter entlang den Mittelnerven beeinflußt die Lage des Kompensationspunktes nicht. Ebenso ließ sich bei etwas stärkeren Verletzungen kein gesicherter Unterschied zwischen verletzten und unverletzten Blättern feststellen. In allen später beschriebenen Versuchen sind die Pflanzen nie stärker verletzt worden als in diesen Vorversuchen.

Um eine Vorstellung darüber zu bekommen, wie stark man ein Blatt verletzen muß, bis die gesteigerte Atmung die Lage des Lichtkompensationspunktes beeinflußt, haben wir Blätter von *Ranunculus ficaria* verschieden stark zerschnitten. Bei der stärksten Schädigung der Blätter,

bei der diese rund herum vom Rande her in Abständen von etwa 3 mm eingeschnitten wurden, stieg der Kompensationspunktswert von 350 lx bei normalen, unverletzten Blättern auf 450 lx. Die Wundatmung ist also vorhanden, liegt aber bei unserer normalen Versuchsanstellung innerhalb der Fehlergrenze, die durch die natürliche Streuung des Versuchsmaterials bedingt wird.

d) Die Zeit, in der sich der Kompensationspunkt bei den einzelnen Pflanzen ablesen ließ, war verschieden. Da wir jeden Versuch beendeten, wenn wir den Wert genau genug ermitteln konnten, ergaben sich für die einzelnen Pflanzen verschiedene Versuchszeiten. Darum mußten wir prüfen, ob die Werte innerhalb der längst benötigten Zeit auch bei den anderen Pflanzen konstant blieben. Daneben schien es uns auch von Bedeutung zu untersuchen, wie lange der Kompensationspunkt an der Stelle konstant bleibt, an der er sich nach 2—3 Std einmal eingestellt hatte. Wir haben dazu zwei verschiedene Versuchsanstellungen verwendet. Einmal haben wir die Versuchskammern einfach mehrere Stunden unverändert liegen gelassen und von Zeit zu Zeit den Kompensationspunkt abgelesen (bis zu 8 Std), zum anderen haben wir nach jeder Bestimmung die Pflanzen in neue Gläser gebracht und diese wiederum an der alten Stelle ausgelegt (bis zu 3 Wechseln). In beiden Fällen konnten wir keine Veränderung der Kompensationspunktswerte feststellen. Die Versuche wurden vorwiegend an Kartoffelblättern angestellt.

e) Merkwürdigerweise war im Gegensatz zur Konstanz des Kompensationspunktswertes bei verlängerter Versuchszeit ein größerer Einfluß festzustellen, wenn man Blätter zu verschiedenen Tageszeiten von der Pflanze abtrennte und sie dann untersuchte. Da wir für diese Versuche sehr viel Material benötigten, wählten wir einige Pflanzen aus, von denen wir ausreichende Blattmengen ernten konnten. Wir verwendeten 2 Baumarten, *Robinia pseudacacia* (einzelne Blattfiedern) und *Celtis australis* (Blatthälften) sowie 2 krautige Pflanzen, *Solanum tuberosum*, Sorte „Heida" und *Aquilegia vulgaris* (jeweils die Fiederblättchen). Am eingehendsten wurden die Verhältnisse bei der Kartoffel untersucht. Das Ergebnis ist in Abb. 5 dargestellt. Wie man sieht, schwankten die Kompensationspunkte bei der Kartoffel zwischen 900 bis 1000 lx und 500—600 lx. Vormittags zwischen 9 und 12 Uhr fanden wir die höchsten Werte und abends und nachts die niedrigsten. Es ist also keineswegs gleichgültig, zu welcher Tageszeit man die Blätter von der Pflanze entfernt und Versuche mit ihnen anstellt. Wie man aus Abb. 5 sieht, waren die Unterschiede bei der Kartoffel am größten. Die später im Jahr durchgeführten Messungen bei *Robinia*, *Celtis* und *Aquilegia* zeigen viel geringere Schwankungen, die teilweise sogar durch die individuelle Streuung der Blätter verdeckt wird. Auch die von VOGT (1959) im Laufe des Frühjahrs und Frühsommers in regelmäßigen Abständen an vielen verschiedenen Pflanzen gemessenen Kompensations-

punkte zeigten vormittags und nachmittags niemals größere Unterschiede, als wir sie bei *Solanum* gefunden haben.

Wir haben die Versuche über die tageszeitliche Änderung der Kompensationspunkte nur durchgeführt, um festzustellen, welche Bedeutung sie als Fehlerquelle für die später zu beschreibenden Untersuchungen hat. Genauere Beobachtungen im Hinblick auf dieses Problem, besonders

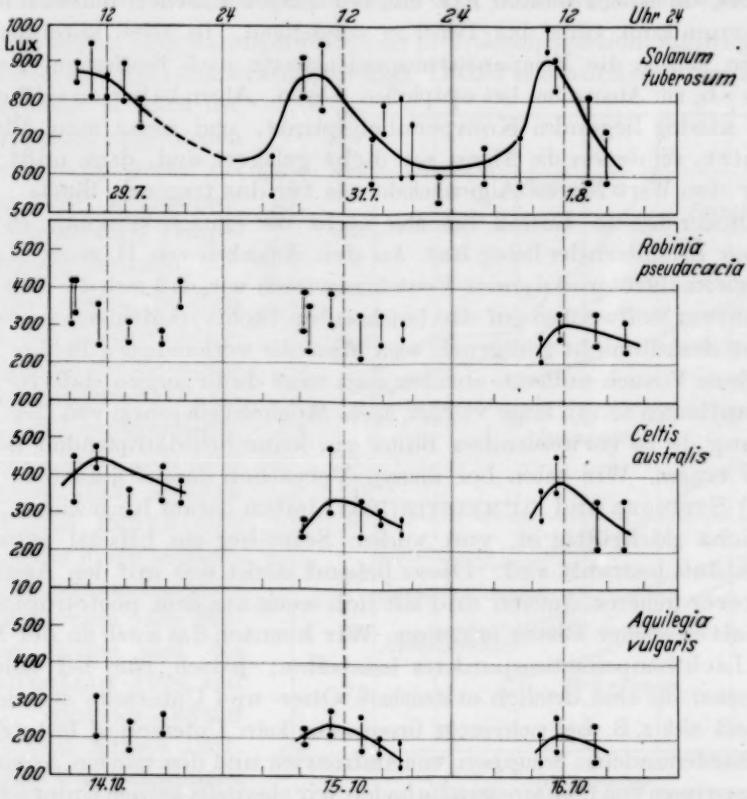


Abb. 5. Der Lichtkompensationspunkt in Abhängigkeit von der Tageszeit, zu der die Blätter von der Pflanze abgeschnitten wurden. Weitere Erläuterungen im Text

auch die Klärung der Ursachen, soll einer besonderen Arbeit vorbehalten bleiben. Aus unseren Versuchen ließ sich erkennen, daß dafür besondere Versuchsanstellungen notwendig sind und die Behandlung dieses Problems eine gesonderte Arbeit erfordert.

f) Bei den Vorversuchen fanden wir oft, daß Blätter, die wir zu Versuchen verwenden wollten, auf der Oberfläche stark verschmutzt waren. Verkrusteter Staub, Rückstände des Gießwassers und vor allem Grünalgen bedeckten die Blattspreiten. Daß solche Beläge den Kompensationspunkt beeinflussen müssen, läßt sich denken, denn sie filtern ja stets einen Teil des Lichtes ab und verfälschen dadurch das Ergebnis.

Wir haben das geprüft an verschmutzten Blättern von *Plantago maior*, an verschiedenen mit Algen bedeckten Pflanzen aus dem Gewächshaus und an Blättern, die einen oberflächigen, dichten, aber leicht zu entfernenden Haarfilz besaßen. Haarfilze wirken ja ebenfalls wie irgendein anderer Belag als Lichtfilter. Je dichter der Filz, desto besser ist die Filterwirkung. Wir konnten das besonders schön bei *Begonia incana* prüfen, deren sehr dichten Filz man bei ausgewachsenen Blättern leicht entfernen kann, ohne das Blatt zu schädigen. In allen untersuchten Fällen sanken die Kompensationspunktswerte nach Entfernen des Belages ab, mit Ausnahme bei epiphyllen Algen. Algen haben an sich einen sehr niedrig liegenden Kompensationspunkt, und wenn man Blätter benutzt, auf denen die Algen sehr dicht gelagert sind, dann mißt man mehr den Wert für die Algenschicht als für das tragende Blatt.

Dieser direkte Einfluß ist aber nicht die einzige Wirkung, die ein solcher lichtfilternder Belag hat. Aus den Angaben von HARDER (1933), RUTTNER (1926) und eigenen Versuchen wissen wir, daß sich die Pflanzen mit ihrem Stoffwechsel auf die bestehenden Lichtverhältnisse einstellen. Es ist deshalb nicht genügend, wenn man die vorhandenen Beläge kurz vor dem Versuch entfernt, sondern man muß dafür sorgen, daß die Versuchspflanzen schon lange vorher, nach Möglichkeit schon von der Ausbildung der zu verwendenden Blätter an, keine lichtdämpfenden Beläge mehr tragen. Wir haben bei unseren Versuchen darauf geachtet.

g) STRUGGER und BAUMEISTER (1951) haben darauf hingewiesen, daß es nicht gleichgültig ist, von welcher Seite her ein bifacial gebautes Flachblatt bestrahlt wird. Dieser Befund deckt sich mit den Angaben mehrerer früherer Autoren und läßt sich auch aus dem phototropischen Verhalten solcher Blätter erkennen. Wir konnten das auch an der Lage des Lichtkompensationspunktes feststellen; jedoch nur bei solchen Pflanzen, die eine deutlich erkennbare Ober- und Unterseite aufwiesen. So ließ sich z. B. bei mehreren Gramineen kein Unterschied feststellen. Bei Kiefernnadeln, Schuppen von Araucarien und den runden Assimilationssprossen von *Cylindropuntia* fanden wir ebenfalls keinen Unterschied.

Besondere Verhältnisse fanden wir bei den Succulenten. *Lithops*-Arten mußten wir mit der Kopfseite (also dem „Fenster") zum Licht hin exponieren, ebenso alle anderen sog. Fensterpflanzen. Bei Arten mit Flachsprossen z. B. Opuntien war es gleichgültig, welche Seite man dem Licht aussetzte. Bei den vielen blattsucculenten *Portulacca-*, *Echeveria-*, *Aloe-* und anderen Arten fanden wir dagegen deutliche Unterschiede in der Lage der Kompensationspunkte, je nach dem ob die dem Licht oder der Erde zugewandte Seite im Versuch zur Lichtquelle hinzeigte.

Unsere Beobachtungen über den Einfluß der Blattmorphologie auf die Lage des Kompensationspunktes führten zu dem Ergebnis, daß nur annähernd gleichgebaute Assimilationsorgane vollkommen miteinander verglichen werden können.

Damit haben wir alles besprochen, was uns im Laufe unserer Arbeiten als Fehlerquellen möglich schien. Je nach Art des Versuchszieles und der Versuchsanstellung mußten wir bei der Durchführung oder Auswertung der Experimente das eine oder andere besonders berücksichtigen. Wir weisen dann jeweils darauf hin.

2. *Versuche zur Temperaturabhängigkeit des Lichtkompensationspunktes*

Die beiden Hauptkomponenten der Lichtkompensation, Atmung und Assimilation, sind temperaturabhängig. Daher muß auch der Kompensationspunkt je nach der Temperatur verschieden liegen, wenn nicht zufällig beide Komponenten den gleichen Temperaturgang besitzen.

Die ersten Studien über die Temperaturabhängigkeit des Kompensationspunktes hat PLÄTZER 1917 veröffentlicht. Danach haben sich dann HARDER 1925, MÜLLER 1928 und EHRKE 1931 mit dieser Frage beschäftigt. Zusammenfassende Darstellungen des Problems finden sich bei LUNDEGÅRDH 1924 und 1957, BOYSEN-JENSEN 1932 und EHRKE 1931. Neuere Untersuchungen stammen von EGLE und SCHENK 1953 und ASHTON 1956. Die Ergebnisse einiger Autoren, und zwar derjenigen, die den Kompensationspunkt über einen größeren Temperaturbereich untersucht haben, sind in Abb. 6 zusammengestellt. Die Maßstäbe für die Ordinaten der einzelnen Kurven in dieser Abbildung sind zwar verschieden, die Kurven sind aber trotzdem vergleichbar, da alle Ordinatenmaßstäbe linear sind. Vor allem kann man den Verlauf der verschiedenen Kurven miteinander vergleichen. Dabei zeigt es sich, daß diese recht verschieden ausfallen können. (Zum Beispiel wenn man die Kurven

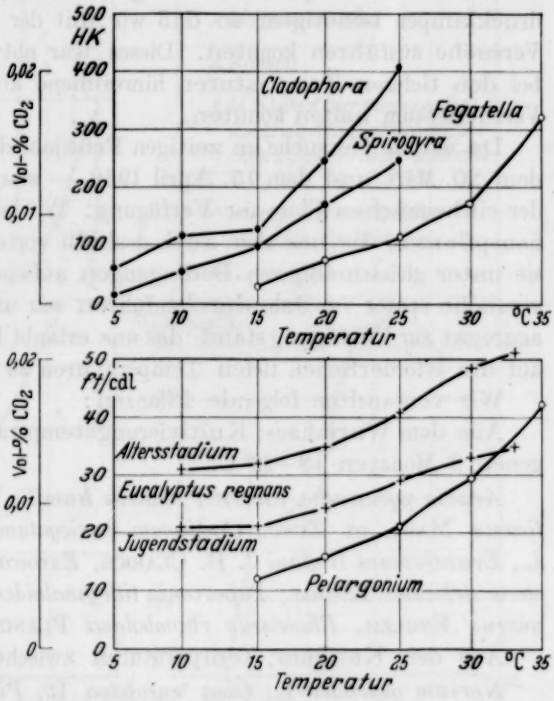


Abb. 6. Die Abhängigkeit des Kompensationspunktes von der Temperatur. Zusammengestellt aus Versuchsergebnissen mehrerer Autoren. •——• nach PLÄTZER 1917, Ordinate in Hefnerkerzen; ○——○ nach EGLE und SCHENK 1953b, Ordinate in Vol-% CO_2 der umgebenden Luft; +——+ nach ASHTON 1956, Ordinate in footcandle

von ASHTON an *Eucalyptus regnans* mit denen von EGLE und SCHENK an *Pelargonium* und denen von PLÄTZER an verschiedenen Algen vergleicht.) Die Ergebnisse der anderen Autoren bestätigen ebenfalls den Eindruck, daß die Temperatur den Kompensationspunkt sehr verschieden beeinflussen kann. Wir hielten es daher für notwendig, hierzu einige Versuche anzustellen.

Die Versuche. Für unsere Versuche über den Einfluß der Temperatur auf den Lichtkompensationspunkt wählten wir solche Pflanzen aus, von denen wir aus vorausgegangenen Untersuchungen wußten, daß sie bei 18—20° C zur Kompensation weniger als 500 lx der Quecksilberhöchstdrucklampen benötigten, so daß wir mit der kleineren Lampe unsere Versuche ausführen konnten. Dieses war notwendig, damit wir auch bei den tieferen Temperaturen hinreichend konstante Verhältnisse im Versuchsraum halten konnten.

Da wir die Versuche im zeitigen Frühjahr durchführten — zwischen dem 20. März und dem 15. April 1958 — standen uns keine Pflanzen der einheimischen Flora zur Verfügung. Wir benutzten daher Gewächshauspflanzen, die uns aber auch deshalb vorteilhafter erschienen, weil sie unter gleichmäßigeren Bedingungen aufwuchsen. Die Temperaturversuche später im Jahr durchzuführen war unmöglich, da kein Kühlaggregat zur Verfügung stand, das uns erlaubt hätte, den Versuchsraum auf die erforderlichen tiefen Temperaturen zu bringen.

Wir verwandten folgende Pflanzen:

Aus dem Warmhaus; Kultivierungstemperatur in den voraufgegangenen 2 Monaten 18—22° C.

Acacia pycnantha BENTH., *Ardisia humilis* VAHL, *Aristolochia brasiliensis* MART. et ZUCC., *Codiaeum variegatum* BLUME, *Coffea arabica* L., *Eranthemum lindaui* C. B. CLARKE, *Excoecaria bicolor* HASSK., *Monstera deliciosa* LIEBM., *Peperomia tithymaloides* A. DIETR., *Scindapsus aureus* ENGLER, *Rhoicissus rhomboidea* PLANCH.

Aus dem Kalthaus; Temperaturen zwischen 5 und 10° C.

Nerium oleander L., *Olea europaea* L., *Pilea cadierei* GAGNEP. et GUILLAUMIN, *Pittosporum tobira* AIT.

Alle verwendeten Blätter stammten jeweils von einer Pflanze, die daher entsprechend groß sein mußte. Es wurden nur solche Blätter verwendet, die sauber und nahezu gleichem Lichtgenuß ausgesetzt waren.

Die Versuche wurden in der bereits beschriebenen Weise durchgeführt. Abweichend von der Beschreibung im methodischen Teil war nur folgendes: Da wir die Blätter nach dem Abschneiden von der Pflanze für etwa $^1/_2$ Std im Versuchsraum liegen ließen, um sie an die Versuchstemperatur zu gewöhnen, schien es uns besser, die Reaktionskammern ebenfalls im Versuchsraum zu beschicken, um erneute Temperaturänderungen in den Blättern zu vermeiden. Die Luft in diesem Raume hatte aber stets eine erhöhte CO_2-Konzentration, so daß es notwendig war, die Kompensationspunkte bei 0,06 Vol-% CO_2 zu messen. Für die Zeit der Temperaturadaptation lagen die Blätter verdunkelt zwischen feuchtem Filtrierpapier.

Die Temperaturstufen haben wir so gewählt, daß zwischen 6—8° C, der niedrigsten Temperatur, die wir erreichen konnten, und 28—30° C in etwa gleichen Abständen 10 Meßpunkte lagen. Wir haben bei der tiefsten Temperatur begonnen und fortlaufend die jeweils wärmere Stufe untersucht. Lediglich die Messungen bei 9° und 12° liegen außerhalb dieser Reihenfolge. Sie wurden durchgeführt, als wir die Unregelmäßigkeiten in den Temperaturkurven der Kompensationspunkte zwischen 10 und 20° C bemerkten.

Parallel zur Lichtkompensation wurde die Dunkelatmungsrate bestimmt. Wir wendeten die colorimetrische Methode so an, wie wir sie im methodischen Teil

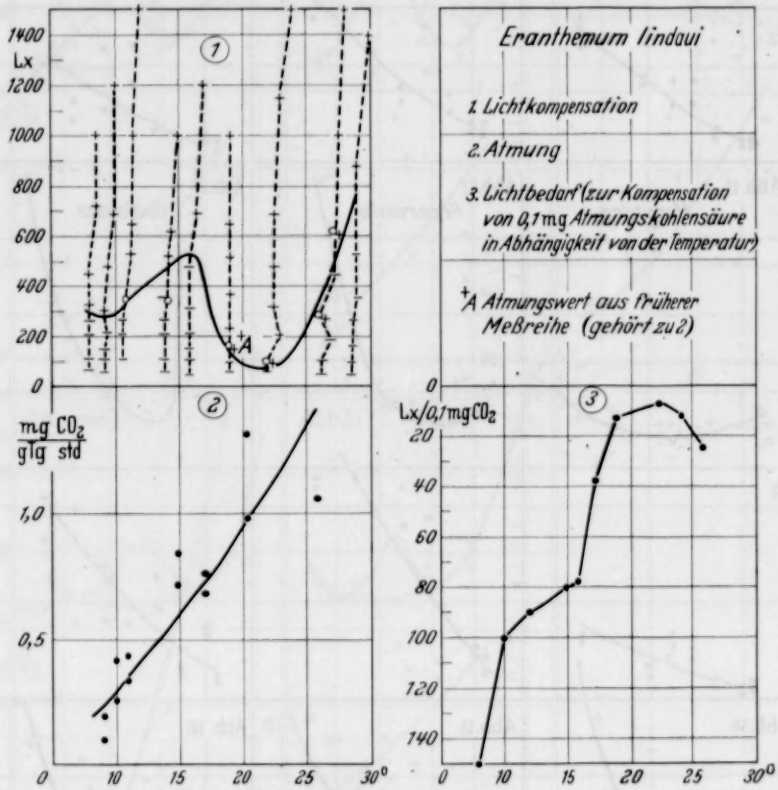


Abb. 7. Temperaturabhängigkeit von Lichtkompensation, Atmung und Assimilationsvermögen bei *Eranthemum lindaui*

beschrieben haben. Da wir mit dem Blattmaterial der Versuchspflanzen sparsam sein mußten, haben wir für jede Temperaturstufe nur 2 Parallelen gemessen.

In der Abb. 7 haben wir an *Eranthemum lindaui* die Versuchsdurchführung noch einmal erläutert. Im linken oberen Teil der Abbildung ist der Temperaturgang des Lichtkompensationspunktes wiedergegeben. Gleichzeitig ist für jedes Reaktionsgefäß dieses Versuches eingetragen, ob das Blatt in ihm assimilierte (+) oder atmete (—). Die Gefäße einer Temperaturserie sind durch eine gestrichelte Linie miteinander verbunden. Daraus läßt sich die Temperaturgleichheit innerhalb eines

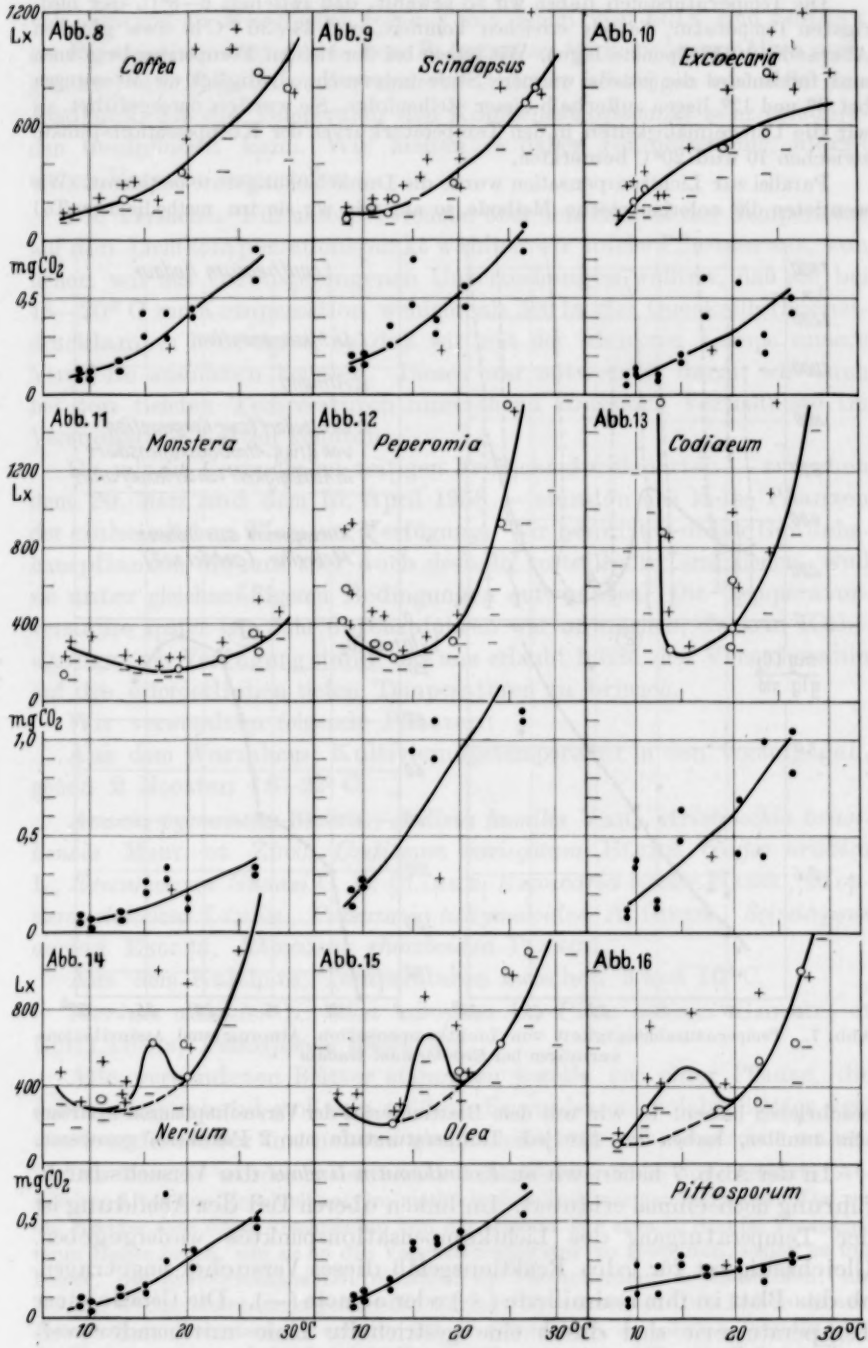


Abb. 8
Coffea
Abb. 9
Scindapsus
Abb. 10
Excoecaria
Abb. 11
Monstera
Abb. 12
Peperomia
Abb. 13
Codiaeum
Abb. 14
Nerium
Abb. 15
Olea
Abb. 16
Pittosporum
1200
Lx
600
0
mg CO2
0,5
0
800
400
1,0
10
20
30°C

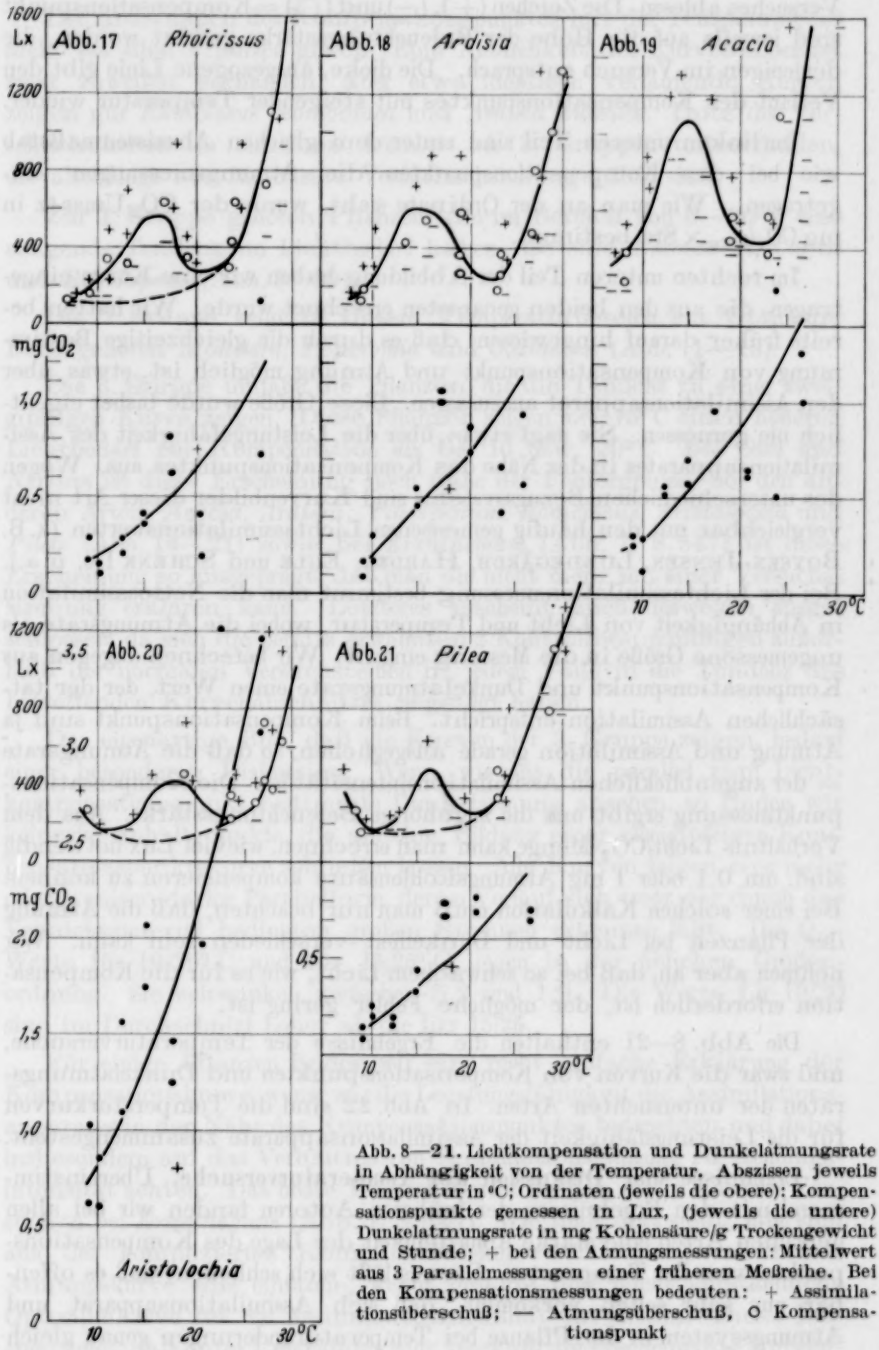


Abb. 8—21. Lichtkompensation und Dunkelatmungsrate in Abhängigkeit von der Temperatur. Abszissen jeweils Temperatur in °C; Ordinaten (jeweils die obere): Kompensationspunkte gemessen in Lux, (jeweils die untere) Dunkelatmungsrate in mg Kohlensäure/g Trockengewicht und Stunde; + bei den Atmungsmessungen: Mittelwert aus 3 Parallelmessungen einer früheren Meßreihe. Bei den Kompensationsmessungen bedeuten: + Assimilationsüberschuß; — Atmungsüberschuß, ○ Kompensationspunkt

Versuches ablesen. Die Zeichen (+), (—) und (○) = Kompensationspunkt sind jeweils auf die Höhe der Beleuchtungsstärke gesetzt worden, die derjenigen im Versuch entsprach. Die dicke, ausgezogene Linie gibt den Verlauf des Kompensationspunktes mit steigender Temperatur wieder.

Im linken unteren Teil sind unter dem gleichen Abszissenmaßstab wie bei den Kompensationspunkten die Atmungsmessungen eingetragen. Wie man an der Ordinate sieht, wurde der CO_2-Umsatz in mg $CO_2/g_{Tg} \times$ Std bestimmt.

Im rechten unteren Teil der Abbildung haben wir eine Kurve eingetragen, die aus den beiden genannten errechnet wurde. Wir hatten bereits früher darauf hingewiesen, daß es durch die gleichzeitige Bestimmung von Kompensationspunkt und Atmung möglich ist, etwas über den Assimilationsapparat auszusagen. Diese Größe wurde bisher eigentlich nie gemessen. Sie sagt etwas über die Leistungsfähigkeit des Assimilationsapparates in der Nähe des Kompensationspunktes aus. Wegen des unterschiedlichen Bezugssystems sind Kurvenbilder dieser Art nicht vergleichbar mit den häufig gemessenen Lichtassimilationswerten (z. B. BOYSEN-JENSEN, LUNDEGÅRDH, HARDER, EGLE und SCHENK l. c. u. a.). Bei der Lichtassimilationsmessung bestimmt man die Nettoassimilation in Abhängigkeit von Licht und Temperatur, wobei die Atmungsrate als ungemessene Größe in die Messung eingeht. Wir berechnen dagegen aus Kompensationspunkt und Dunkelatmungsrate einen Wert, der der tatsächlichen Assimilation entspricht. Beim Kompensationspunkt sind ja Atmung und Assimilation gerade ausgeglichen, so daß die Atmungsrate = der augenblicklichen Assimilationsintensität ist. Die Kompensationspunktmessung ergibt uns die zugehörige Beleuchtungsstärke. Aus dem Verhältnis Licht/CO_2-Menge kann man errechnen, wieviel Lux notwendig sind, um 0,1 oder 1 mg Atmungskohlensäure kompensieren zu können. Bei einer solchen Kalkulation muß man nur beachten, daß die Atmung der Pflanzen bei Licht und Dunkelheit verschieden sein kann. Wir nehmen aber an, daß bei so schwachem Licht, wie es für die Kompensation erforderlich ist, der mögliche Fehler gering ist.

Die Abb. 8—21 enthalten die Ergebnisse der Temperaturversuche, und zwar die Kurven von Kompensationspunkten und Dunkelatmungsraten der untersuchten Arten. In Abb. 22 sind die Temperaturkurven für die Leistungsfähigkeit der Assimilationsapparate zusammengestellt.

Ergebnisse und Diskussion der Temperaturversuche. Übereinstimmend mit den Ergebnissen der früheren Autoren fanden wir bei allen geprüften Arten eine starke Abhängigkeit der Lage des Kompensationspunktes von der Temperatur. Daraus läßt sich schließen, daß es offenbar nur sehr selten vorkommt, daß sich Assimilationsapparat und Atmungssystem in der Pflanze bei Temperaturänderungen genau gleich verhalten.

Die Änderungen des Kompensationspunktes mit der Temperatur ist nicht bei allen Pflanzen gleich. Eine Ähnlichkeit der Kurvenbilder ist zwar zuweilen vorhanden, aber etwa identisch verlaufende Kurven zeigen nur *Rhoicissus rhomboidea* und *Ardisia humilis*. Trotz der Verschiedenheiten im einzelnen können wir 3 Gruppen unterscheiden, die allerdings nur für unsere Versuchsanstellung gültig sind.

Zur 1. Gruppe gehören Pflanzen, die im Bereich von 5—30° C eine steigende Tendenz im Lichtbedarf haben, das sind *Excoecaria*, *Coffea* und *Scindapsus* (Abb. 8—10).

Die 2. Gruppe zeigt in diesem Temperaturbereich ein Optimum. Dazu gehören *Monstera*, *Peperomia* und *Codiaeum* (Abb. 11—13).

Die 3. Gruppe umfaßt die Pflanzen, die die Tendenz zu einer zweigipfligen Kurve zeigen. Diese Pflanzen zeigen bei 15° C einen höheren Lichtbedarf zur Kompensation als bei 10 bzw. 20° C. Bei *Olea* und *Nerium* ist diese Erscheinung noch nahe der Fehlergrenze, bei den anderen Arten, *Acacia*, *Ardisia*, *Pittosporum*, *Rhoicissus*, *Aristolochia* und *Pilea* (Abb. 14—21) sowie bei *Eranthemum* (Abb. 7, S. 547) ist diese Erscheinung so ausgeprägt, daß man sie nicht mehr mit einer Versuchsstreuung erklären kann. Letzteres erscheint auch deswegen ausgeschlossen, da sich die bereits erwähnten 2 Kontrollbestimmungen außerhalb der normalen Versuchsreihen in jedem Falle in die Tendenz des betreffenden Kurvenabschnittes eingefügt haben.

Das eigenartige Bild, daß die Kurven der 3. Gruppe zeigen, bedarf einer besonderen Diskussion. Wenn wir uns die parallel zum Lichtkompensationspunkt bestimmte Dunkelatmung ansehen, so finden wir keinerlei Anhaltspunkte, die auf eine Bildung einer zweigipfligen Kompensationspunktskurve schließen lassen. Alle Kurven zeigen eine mehr oder weniger starke Parabelform, deren Verlauf sich trotz der durch das Versuchsmaterial bedingten großen Streuung erkennen läßt. Die Q_{10}-Werte für 10/20° C und für 15/25° C liegen in der üblichen Größenordnung. Sie schwanken zwischen 5,2 und 1,0. Die Werte für 10/20 sind im Durchschnitt höher als die für 15/25.

Für einige Pflanzen finden wir eine recht einfache Erklärung der Kompensationskurve, wenn wir die Leistungsfähigkeit des Assimilationsapparates in der Nähe des Kompensationspunktes betrachten und dabei insbesondere auf das Verhältnis von Assimilationsleistung zu Atmungsintensität achten. Das beste Beispiel hierfür fanden wir in unseren Versuchen bei *Eranthemum* (Abb. 7, S. 547). Wie man dort sieht, läßt sich aus der komplizierten Kompensationskurve und der parabolischen Atmungskurve eine einfache, wenig gestörte und leicht verständliche Optimumkurve für die Assimilationsintensität entwickeln. Dieses Beispiel zeigt, daß unter Umständen sehr merkwürdig erscheinende Kurvenbilder eine einfache Erklärung finden können.

In Abb. 22 haben wir für alle geprüften Arten die aus Lichtkompensation und Dunkelatmung kalkulierten Assimilationsleistungskurven

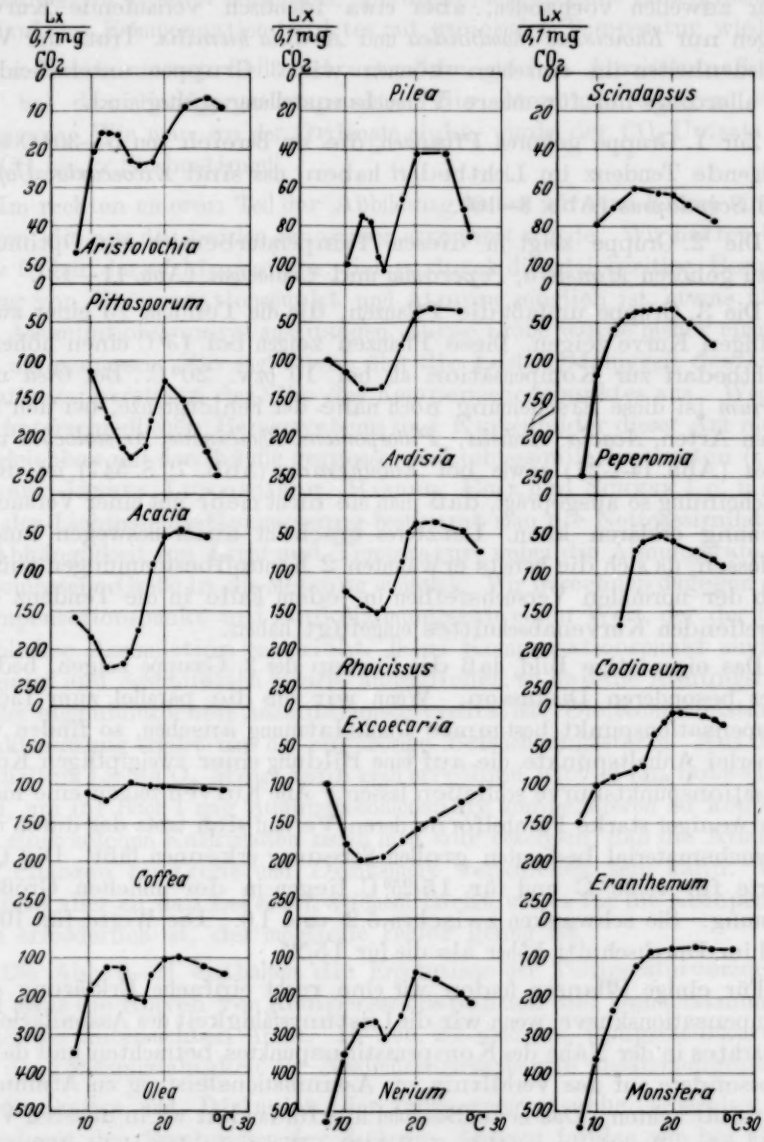


Abb. 22. Die Leistungsfähigkeit des Assimilationsapparates einiger Pflanzen in der Nähe des Kompensationspunktes gemessen in Lux Lichtbedarf zur Kompensation von 0,1 mg Atmungskohlensäure

zusammengestellt. Wenn wir die 15 Arten überschauen, so finden wir bei fünfen, das sind die in der Reihe rechts außen übereinander gezeichneten Optimumkurven. *Aristolochia*, *Pilea*, *Olea* und *Nerium* zeigen

ebenfalls eine Tendenz zur Optimumkurve, diese ist jedoch in jedem Falle in der Nähe von 15° C gestört. Von den übrigen 6 Arten zeigt *Coffea* keine Optimumbildung, und *Pittosporum*, *Ardisia*, *Acacia*, *Rhoicissus* sowie *Excoecaria* lassen eine Zweigipfligkeit in ihren Kurven erkennen, von der wir aus unserer Versuchsanstellung heraus nicht entscheiden können, ob es sich um eine „gestörte" Optimumkurve handelt oder nicht, da wir nach beiden Seiten die Temperaturskala nicht weit genug zur Verfügung haben.

Es war im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, die im Zusammenhang mit den Temperaturversuchen auftretenden Probleme in allen Einzelheiten zu klären. Bei der Vielfalt von Fragen, die den Lichtkompensationspunkt direkt betreffen, mußten wir uns auf diese beschränken. Die weitere Untersuchung der vorerst noch undeutbaren Zweigipfligkeit der Lichtkompensations- und Assimilationsintensitätskurven muß einer besonderen Arbeit vorbehalten bleiben. Wir wollen hier nur kurz darauf hinweisen, daß das Problem nicht vollkommen neu ist. In einer Reihe von Arbeiten haben Lundegårdh 1924, Beljakoff 1930, Henrici 1921, Neydel 1930, Stocker 1927 und 1935, Walther 1927 und Yoshii 1928 zwei- und mehrgipflige Assimilationskurven beschrieben. Ihre Arbeiten standen im Gegensatz zu denen von Matthaei 1905, Müller 1928 u.a., die nur eingipflige Temperaturkurven der Assimilation fanden.

Vor allem die Kritik von Boysen-Jensen 1932, in der nachgewiesen wird, daß sich ein Teil der Optima in den Lichtassimilationskurven bei verschiedenen Temperaturen durch Streuung des Versuchsmaterials erklären lassen und statistisch nicht zu sichern sind, hat zu einer allgemeinen Ablehnung der mehrgipfligen Temperaturkurven geführt. Es lassen sich aber nicht alle der von Lundegårdh und den anderen Autoren gefundenen Gipfel in den Temperaturkurven als Streuung deuten. Nachdem wir nun mit einer ganz anderen Methode als der von Lundegårdh zum gleichen Ergebnis kommen, erscheint es notwendig, daß man diese Versuche wieder aufgreift und die Ursachen der Mehrgipfligkeit bei den Temperaturkurven klärt.

Einen Anhaltspunkt für weitere Untersuchungen in dieser Richtung erhielten wir in einer Besprechung mit Prof. Ullrich. Danach hat Wetzel (unveröffentlicht) bei Kompensationspunktmessungen an *Helianthus annuus* ein Kurvenbild erhalten, das etwa demjenigen von *Ardisia* entspricht. Wetzel arbeitete jedoch mit einer anderen Methode, bei der auch die Absorption der Kohlensäure im Gewebe mit berücksichtigt werden konnte. Nach Mitteilung von Prof. Ullrich ließen sich die Ergebnisse bei Wetzel durch den zusätzlichen temperaturabhängigen Einfluß der Kohlensäureabsorption im Gewebe deuten. Dieses Ergebnis gibt uns einen Anhaltspunkt dafür, in welcher Richtung hin wir weiter untersuchen können.

Unsere Ergebnisse aus den Temperaturversuchen zusammenfassend können wir sagen: Der Lichtkompensationspunkt der Pflanzen ändert sich mit der Temperatur mehr oder weniger stark. Von einigen Unregelmäßigkeiten abgesehen ist bei hohen Temperaturen mehr Licht zur

Kompensation der Atmungskohlensäure notwendig, als bei niedrigen. Die Änderungen der Kompensationspunkte mit der Temperatur sind so stark und so unterschiedlich, daß es notwendig ist, bei Versuchen, die miteinander verglichen werden sollen, die Temperatur auf $\pm 1^0$ C konstant zu halten. Eine generelle Temperaturkorrektur kann nicht angebracht werden.

Zusammenfassung

In einer früheren Arbeit (LIETH 1958) wurde festgestellt, daß sich die colorimetrische CO_2-Bestimmung nach KAUKO sehr gut dazu eignet, den Lichtkompensationspunkt der Landpflanzen zu bestimmen. Wir haben daher in der vorliegenden Arbeit den Kompensationspunkt solcher Pflanzen nach vielen Richtungen hin untersucht. Bei diesen Studien sollte unter anderem geprüft werden, ob die Feststellung des Kompensationspunktes als Testmethode bei der Bearbeitung ökologischer und physiologischer Probleme geeignet ist. Im einzelnen wurde folgendes untersucht und festgestellt:

1. In einigen Versuchsreihen ließ sich der Einfluß versuchstechnisch bedingter Fehlerquellen aufklären. Besonders eingehend wurden die Verwundung der Blätter und das Abschneiden der Pflanzenteile zu verschiedenen Tageszeiten untersucht.

2. Bei 15 Arten haben wir die Abhängigkeit der Kompensationspunkte von der Temperatur zwischen $+5^0$ und $+30^0$ C untersucht. Wir fanden unter unseren Versuchsbedingungen oberhalb von 20^0 bei allen Pflanzen einen Anstieg des Kompensationspunktes mit steigender Temperatur. Unterhalb von 20^0 verhielten die Pflanzen sich verschieden. Eine Gruppe zeigte bis $+5^0$ abwärts weiterhin fallende Tendenz (das Minimum wurde nicht erreicht), eine 2. Gruppe hatte ein Minimum zwischen 10 und 20^0 C und eine 3. Gruppe ließ 2 Minima erkennen, von denen eines bei 15^0 lag und das zweite sich in der Nähe von $+5^0$ bereits andeutete.

3. Parallel zu den Kompensationspunkten haben wir die Temperaturkurven der Dunkelatmung bestimmt. Aus beiden Meßreihen wurde eine dritte Größe, die Leistung des Assimilationsapparates in der Nähe des Kompensationspunktes herausgerechnet. Dabei fanden wir für einige Kompensationskurvenbilder eine logische Deutungsmöglichkeit.

4. Die Methode der colorimetrischen CO_2-Bestimmung für Kompensationspunkts- und Atmungsmessungen wird eingehend beschrieben.

Das Literaturverzeichnis folgt am Schluß der II. Mitteilung im nächsten Heft.

Dr. HELMUT LIETH,
Botanisches Institut der Landwirtschaftlichen Hochschule
Stuttgart-Hohenheim

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach Jansen" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u.a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Ergebnisse der Biologie

Herausgegeben von H. Autrum, E. Bünning, K. v. Frisch, E. Hadorn, A. Kühn, E. Mayr, A. Pirson, J. Straub, H. Stubbe, W. Weidel. Redigiert von H. Autrum

Zweiundzwanzigster Band

Mit 55 Abbildungen. IV, 289 Seiten Gr.-8°. 1960. (Davon drei Beiträge in englischer Sprache) DM 30,—

INHALTSÜBERSICHT

Comparative aspects of hypothalamic-hypophysial relationships · Der Stoffwechsel der Trypanosomen · Centrifugal mechanisms of sensory control · Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen. (1. Teil: Das reversible Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem und das Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem) · Die Bitterstoffe der Cucurbitaceen · Die cytologischen und genetischen Konsequenzen von Inversionen · Pheromones · Die Eigenschaften und Funktionstypen der Sinnesorgane · Namen- und Sachverzeichnis.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Voraussichtlich im Frühjahr 1960 wird erscheinen

Handbuch der Pflanzenphysiologie
Encyclopedia of Plant Physiology

Herausgegeben von W. RUHLAND, Unterdeufstetten

In Gemeinschaft mit

E. ASHBY, Belfast, J. BONNER, Pasadena, M. GEIGER-HUBER, Basel, W. O. JAMES, London, A. LANG, Pasadena, D. MÜLLER, Kopenhagen, M. G. STÅLFELT, Stockholm

In 18 Bänden. Jeder Band ist einzeln käuflich

Teil II / Part II:

Stoff- und Energiewechsel — Metabolism

5. Band

Die CO_2-Assimilation — The assimilation of carbon dioxide

Redigiert von ANDRÉ PIRSON, Göttingen

Mit 606 Abbildungen. Etwa 2060 Seiten Gr.-8°. 1960.

(52 Beiträge in deutscher, 18 in englischer Sprache)

In zwei Teile gebunden, die nur zusammen abgegeben werden

Vorbestellpreis gültig bis zum Erscheinen Ganzleinen DM 424,—

Endgültiger Ladenpreis nach Erscheinen Ganzleinen DM 530,—

Bei Verpflichtung zur Abnahme des Gesamtwerkes gilt der Vorbestellpreis auch nach Erscheinen des Bandes weiter als Subskriptionspreis bis zum Abschluß des Werkes; jedoch ist jeder Band zum Ladenpreis einzeln käuflich.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany